



**T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SOĞAN VE PROPOLİS EKSTRAKTININ MCF-7 KANSER
HÜCRELERİ VE MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Burcu BALKIŞ
154301002**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Muhsin KONUK**

İSTANBUL-2017

**T.C.
ÜSKÜDAR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SOĞAN VE PROPOLİS EKSTRAKTININ MCF-7 KANSER
HÜCRELERİ VE MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Burcu BALKIŞ
154301002**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Muhsin KONUK**

İSTANBUL-2017



T.C.
ÜSKÜDAR
ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI

.....FEN BİLİMLERİ..... ENSTİTÜSÜ

GENEL BİLGİLER

Öğrenci No	: 154301002
Öğrenci Adı Soyadı	: Burcu BALKIŞ
Anabilim Dalı	: Moleküler Biyoloji Anabilim DALI
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Muhsin KONUK
Tezin Başlığı	: Soğan ve Propolis Ekstraktının MCF-7 ^{kanser hücreleri ve} mikroorganizmalar üzerine etkilerinin araştırılması

Toplantı Tarihi	: 28.09.2017	Saati	: 16:00
-----------------	--------------	-------	---------

Öğrenci Savunmaya : Geldi

Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca tez bilimsel olarak incelenmiş, adayın tez çalışmasını sunmasının ardından, adaya tez çalışması ile ilgili sorular yöneltilmiştir.

- Yapılan savunma sınavında adayın tez çalışması başarılı bulunarak **KABUL** edilmesine,
 Yapılan savunma sınavı sonunda tez çalışmasının **DÜZELTİLMESİNE**, düzeltme için adaya ay **EK SÜRE** verilmesine (en fazla 3 ay)
 Yapılan savunma sınavının sonunda tezin **REDDEDİLMESİNE**
 OY BİRLİĞİ **OY ÇOKLUĞU**

İle karar verilmiştir.

Savunmada Tezin Başlığı : Değişmedi Değişti

Tezin Yeni Başlığı : Değişmedi

Öğrenci Savunmaya : Gelmedi

Üniversitemiz Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca yukarıda belirtilen tarih ve saatte Tez Savunma Jürisi toplanmış ancak ilgili öğrenci savunma sınavına gelmemiştir. Adayın tez çalışmasını Jüri önünde sunmadığı için yapılan değerlendirmeler sonunda adayın tez çalışmasıyla ilgili aşağıdaki kararı,

OY BİRLİĞİ İLE REDDEDİLMİŞTİR.

Tez Sınavı Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Muhsin KONUK	
Danışman Üye		
Üye	Yard. Doç. Dr. Kaan YILANCIOĞLU	
Üye	Doç. Dr. Korkut ULUCAN	
Üye		

[Tüm durumlarda jüri üyelerinin tez değerlendirme raporları gerekir.]

Sayı No :

Tarih : / / 20

Yukarıda kimlik bilgileri belirtilen ve Anabilim Dalımız Yüksek Lisans Programı öğrencisinin Tez Savunma Sınav Tutanağı ve eklerinin Enstitü Yönetim Kurulunda görüşülmesi hususunda bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.

Not: Bu forma orijinal raporlar (bir nüsha) eklenecektir.

.....
Anabilim Dalı Başkanı
(Unvanı, Adı Soyadı, İmza)

ÖZET

SOĞAN VE PROPOLİS EKSTRAKTININ MCF-7 KANSER HÜCRELERİ VE MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Balkış, Burcu

Yüksek Lisans, Moleküler Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Muhsin KONUK

Eylül 2017

Bu çalışmada çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan soğan ve propolis örneklerinin Mcf-7 meme kanseri hücresine canlılığının etkisi ve 5 farklı bakteride antimikrobiyal özelliği incelenmiştir. Hücre hattı canlılığı için MTT testi kullanılmış ve soğan, propolis için metanollü ve etanollü ekstraktlarda çalışılmıştır. Antimikrobiyal deneyler için metanol, metanol LB, etanol ekstraktlarıyla çalışılmıştır. Hücre canlılığı ve antimikrobiyal çalışma grubu içinde sıvı mikrodilüsyon tekniği tercih edilmiştir. Soğanın ve propolisin alkol çözücülerini kontrol grubu olarak tercih edilmiştir. En iyi sonuçlara metanollü ekstraktlar sayesinde ulaşılmıştır. 0.2, 0.1 propolis metanollü ekstraktlarında en yoğun konsantrasyonlarda hücre canlılığında azalma görülürken 0.05 mg/ml olan konsantrasyonunda bütün dozlarında hücre canlılığında net bir azalma görülmüştür. Soğanın metanollü ekstraktı için 0.01 ve 0.002 mg/ml'nin bütün Etanollü yapılan ekstraktlarda hücre canlılığında azalma vardır. Kontrol grubuna göre yaklaşık bu oran %20'dir. Antimikrobiyal deneylerde İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesinden klinik olarak izole edilen *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* tercih edilmiştir. Metanollü, metanol LB, etanollü olarak elde edilen soğan ve propolis ekstraktlarının hiçbir konsantrasyonunda etki göstermemiştir.

Anahtar kelimeler: *Propolis, Soğan, Mcf-7 hücre hattı, Antimikrobiyal, MTT*

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ONION AND PROPOLIS EXTRACTS ON MCF-7 CANCER CELLS AND THEIR ANTIMICROBIAL EFFECTS

Balkış, Burcu

M. Sc., Department of Molecular Biology

Supervisor: Prof. Dr. Muhsin KONUK

Eylül 2017

In this study, the effect of onion and propolis samples prepared at various concentrations on the viability of MCF-7 breast cancer cells and the antimicrobial properties on 5 different bacteria were investigated. The MTT assay was used for cell line viability and the onion was run on methanol and ethanol extracts for propolis. Methanol, methanol LB, ethanol extracts were used for antimicrobial assays. Liquid microdilution technique was preferred in both study groups. Onion and propolis alcohol solvents are preferred as the control group. The best results were achieved with methanol extracts. In the methanolic extracts of 0.2, 0.1 propolis a decrease in cell viability was observed at the most intense concentrations whereas at a concentration of 0.05 mg / ml there was a clear decrease in cell viability at all doses. A decrease in cell viability was observed for all concentrations of 0.01 and 0.002 mg / ml were observed for the onion's methanol extract. In ethanolic extracts there is a reduction in cell viability at all doses. This rate was about 20% when compared to the control group. The bacteria used in antimicrobial experiments, *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae*, were obtained from the Cerrahpasa Medical Faculty of Istanbul University. Methanol, methanol LB, and ethanol extracts did not show any inhibition at any concentrations examined.

Key words: *Propolis, Onion, MCF-7 Cell Line, Antimicrobial, MTT*

Önsöz

Tezimin oluşturulmasında ve devamlılığında çok değerli bilgilerini benden hiçbir zaman esirgemeyen öğrencisi olarak beni kabul etmesinin gururunu ve onurunu bana yaşatan öğrencilik hayatım boyunca hem en çok sevdiğim hem de en kıymetli hocam Prof. Dr. Muhsin KONUK hocama ve değerli bilgilerini benimle paylaşan üzerimden emeğini ve sabrını asla esirgemeyen güleryüzlü her zorluğun altından başarıyla kalkan Yard. Doç. Dr. Kaan YILANCIOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarım boyunca yanımda olup bana destek olan yardımlarını esirgemeyen sevgili hocam Ar. Gör. Seda KUŞOĞLU'na çok teşekkür ederim. Desteğini ve yardımlarını eksik etmeyen Sedat BALCIOĞLU'na ayrıca teşekkür ederim.

Tek tek adlarını yazmak çok istediğim hem laboratuar çalışanı arkadaşlarım hem de üniversitemizin lisans bölümü öğrencilerinin üzerimdeki mental destekleri için ayrıca çok teşekkür ederim.

Her zaman benden desteğini esirgemeyen aileme ve her daim destekçim canım dedem Gülali BALKIŞ'a sonsuz teşekkürler. Çalışmamın milletime ışık olmasını diliyorum.

BEYAN

Bu çalışmanın kendi tez çalışmam olduğunu, planlanması ve yazımı da dâhil olmak üzere hiçbir aşamasında etik olmayan herhangi bir hareketimin var olmadığına, tezindeki bilgilerinin tamamını akademik ve etik kurallar içinde dzenlediğimi, bilgi ve yorumlarda dâhil olmak üzere tamamına kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakların kaynakça kısmında yer aldığını beyan ederim.

Eylül, 2017

Burcu BALKIŞ

İÇİNDEKİLER

Tez Onay Formu.....	iv
Özet.....	v
Abstract.....	vi
Önsöz.....	vi
Beyan.....	vii
Tablolar Listesi.....	xii
Şekiller Listesi.....	xiii
Simge ve Kısaltmalar Listesi.....	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Hücre Yaşam Siklusu ve Kanser.....	2
2.1.1. Hücre Siklusu.....	2
2.1.2. Hücre Siklusunun Düzenlenmesi.....	3
2.1.3. Hücre Siklusu ve Kanser.....	4
2.1.4. Meme Kanseri.....	5
2.1.5. Meme Kanseri ve Beslenme.....	6
2.2. Bakteri.....	7
2.2.1. Bakterilerin Genel Özellikleri.....	7
2.2.2. Gram Pozitif Bakterilerin Genel Özellikleri.....	7
2.2.3. Gram Negatif Bakterilerin Genel Özellikleri.....	8
2.2.4. Bakterilerin Hücre Yapısı.....	9
2.2.5. <i>Escherichia coli</i> Genel Özellikleri.....	9
2.2.6. <i>Lactobacillus sp.</i> Genel Özellikleri.....	10
2.2.7. <i>Staphylococcus aureus</i> Genel Özellikleri.....	11
2.2.8. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Genel Özellikleri.....	11
2.2.9. <i>Kliebsiella pneumoniae</i> Genel Özellikleri.....	12
2.2.10. Bakterilerin Sağlık Üzerine Olumlu ve Olumsuz Etkileri.....	13

İÇİNDEKİLER

2.3. Propolis.....	14
2.3.1. Propolis Tanım ve Tarihçesi.....	14
2.3.2. Propolis Fiziksel Özellikleri.....	15
2.3.3. Propolis Kimyasal Özellikleri.....	16
2.3.4. Propolis Biyolojik Özellikleri.....	16
2.3.4.1. Antioksidan.....	17
2.3.4.2. Flavonoidler.....	18
2.3.5. Propolis Antimikrobiyal Özellikleri.....	19
2.3.6. Propolis Deneysel Alanda Kullanım Alanları.....	20
2.4. Soğan.....	21
2.4.1. Soğan Tanım ve Tarihçesi.....	21
2.4.2. Soğan Fiziksel Özellikleri.....	22
2.4.3. Soğan Kimyasal Özellikleri.....	23
2.4.4. Soğan Biyolojik Özellikleri.....	23
2.4.5. Soğan Antimikrobiyal özellikleri.....	24
2.4.6. Soğan Deneysel Olarak Kullanım Alanları.....	24
3. MATERYAL VE METOD.....	25
3.1. Materyal.....	25
3.2. Metod.....	28
3.2.1. Propolis, Soğan, Hücre Kültürü Kimyasallarının Hazırlanması.....	29
3.2.2. Hücre Kültürü.....	30
3.3.1. MTT (Canlılık Testi).....	33
3.3.2. Antimikrobiyal Testlerde kullanılan Bakterin Eldesi.....	38
3.4. İstatiksel analiz.....	41
4. BULGULAR.....	42
4.1. MTT Testi Kullanılarak Propolis ve Soğan Ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattındaki canlılık sonuçları.....	42
4.2. <i>Escherichia coli</i> , <i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aureginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterileri için metanollü, metanollü LB, etanol ile seyreltilmiş antimikrobiyal deney sonuçları.....	47
5. TARTIŞMA.....	50

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
7. KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	72



TABLULAR LİSTESİ

<u>Tablo1. Deneylede kullanılan cihazlar ve yararlanım amaçları.....</u>	<u>25</u>
<u>Tablo2. Deneylede kullanılan kimyasallar ve yararlanım amaçları.....</u>	<u>26</u>
<u>Tablo3. Deneylede kullanılan sarf malzemeler ve yararlanım amaçları.....</u>	<u>27</u>
<u>Tablo4. Propolis ve soğanın metanollü ekstraktlarının 500, 50, 10 , 5 , 1 µM konsantrasyonlarıyla Mcf-7 üzerine etkisi.....</u>	<u>46</u>



ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil 1. Hücre yaşam siklusu.....</u>	2
<u>Şekil 2. Büyüme için yapışmış bir kanser hücresi.....</u>	4
<u>Şekil 3. Toplanmış ham propolis.....</u>	15
<u>Şekil 4. Propolisin metanollü (1/5)-0.2 mg/ml, (1/10)-0.1 mg/ml , (1/20)-0.05 mg/ml ekstraktının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi.....</u>	42
<u>Şekil 5. Soğanın metanollü 1/100-(0.01) mg/ml ve 1/500-(0.002) mg/ml ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi.....</u>	43
<u>Şekil 6. Propolisin etanollü 1/50-(0.02) mg/ml ve 1/250-(0.004) mg/ml ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi.....</u>	44
<u>Şekil 7. Soğanın etanollü 1/50-(0.02) mg/ml ve 1/250-(0.004) mg/ml ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi.....</u>	45
<u>Şekil 8. Propolisin ve Soğanın <i>Escherichia coli</i>, <i>Lactobacillus sp.</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aureginosa</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterileri için metanollü ekstraktları sonuçları.....</u>	47
<u>Şekil 9. Propolisin ve Soğanın <i>Escherichia coli</i>, <i>Lactobacillus sp.</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aureginosa</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterileri için etanollü ekstraktlarının sonuçları.....</u>	48
<u>Şekil 10. Propolisin ve Soğanın <i>Escherichia coli</i>, <i>Lactobacillus sp.</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aureginosa</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i> bakterileri için metanol LB ekstraktlarının sonuçları.....</u>	49

SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

TSG : Tumor supressor gene

LPS : Lipopolisakkarit

NAGA : N- asetil glukozamin

NAMA : N- asetil muramik asit

DNA : Deoksiribonüklesik asit

RNA : Ribonükleik asit

µm : mikromol

mg/ml : miligram/mililitre

°C : Santigrat derece

SOR : Serbest oksijen radikalleri

SNR : Serbest nitrojen radikalleri

CAT : Katalaz

SOD : Superoksit dismutaz

G6PD : Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz

ROS : Reaktif oksijen ürünleri

DMSO : Dimethyl Sulfoxide

FBS : Fetal Bovine Serum

NaCl : Sodyum klorür

KCl : Potasyum klorür

Na₂HPO₄ : Di sodyum fosfat

KH₂PO₄ : Potasyum di hidro fosfat

HCl : Hidrojen klorür

µg/ml : mikrogram/mililitre

CDKs : Siklin-bağımlı kinazlar

cm : Santimetre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Günümüzde kanser çeşitlerinin birçok türü ve nedenleri bilinmektedir. Buna rağmen bu konudaki araştırmalar çeşitlilik sağlanarak hızla devam ettirilmeye çalışılmaktadır. Kanser, herhangi bir hücre çoğalmasındaki hatalı bir düzenleyicinin genetik olarak diğer bireylere aktarılmasıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2015 Şubat ayı verilerine göre 8 milyon 200 bin kişi kanser dolayısıyla hayatını kaybetmektedir. Erkekler için en yaygın kanser türü akciğer kanseri olurken kadınlarda en sık rastlanan kanser türü ise meme kanseridir. Kanser tedavisindeki asıl amaç en az zararlı tümör içeren dokunun temizlenmesidir. Beslenme ve yeme alışkanlıklarının kanser türlerinin oluşumu ve etkinliğinin düzenlenmesi hakkında pek çok çalışma sunulmuştur. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda soğan ve propolisin anti-kanser, anti-tümör anti-inflamatuar, anti-viral, anti-bakteriyel etkinlikleri ortaya konulmaya çalışılmıştır. Soğan kendi başına bulunan birçok kimyasal madde içermektedir. Propolis doğal olarak içerdiği flavonoidlerin yanı sıra etken maddesi olan Kafeik asitin yapısı da aydınlatılmıştır. Yapılan çalışmalarda soğan ve propolis ekstraktlarının yüksek dozlarında anlamlı hücre azalmaları görülmüştür. Bu çalışmada;

1. MCF-7 kanser hücresi hücre hattındaki canlılığının propolis ve soğan ekstraktlarının etkinliğinin belirlenmesi.
2. Gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Lactobacillus sp.*) ve Gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) klinik suşlarının antimikrobiyal etkinlikleri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. HÜCRE YAŞAM SIKLUSU VE KANSER

2.1.1. Hücre siklusu

Hücrenin kendine ait normal yaşam döngüsü dinlenme ve bölünme olarak iki fazdan oluşur. Dinlenme dönemi bölünme dönemine göre daha uzun bir süreci kapsamaktadır. Bu döneme G_0 fazı olarak adlandırılmaktadır. Bölünme süreci ise mitoz için hazırlıkların yapıldığı G_1 , S ve G_2 fazlarıdır (Şekil 1).



Şekil 1. Hücre yaşam siklusu
Açık yeşil : G_1 , DNA eşlemesine hazırlık
Pembe : S, DNA eşlemesi ve sentez
Sarı : G_2 , mitoz başlangıç
Koyu pembe ve pembe : M, mitoz
Mavi : İnterfaz

(Bilim Deryası, 2017).

Mitoz ise M fazında gerçekleşir. M fazında nükleosun (karyokinez) ve sitoplazmanın (sitokinez) bölünmesi meydana gelir. G_1 fazında DNA eşlemesinde kullanılacak RNA ve proteinlerin çoğaltılması yapılır. S fazında DNA eşlenmesine başlanacak bölgeler işaretlenir. Böylece DNA diploid hale gelir. G_2 fazı ise mitoz için son düzenlemelerin gerçekleştiği alandır. Son aşama, M fazı hücrenin iki ayrı hücrenin meydana geldiği mitoz bölünme aşamasıdır (Riether, 2004).

2.1.2. Hücre siklusunun düzenlenmesi

Hücre yaşam döngüsünü belirleyenler siklinler ve sikline-bağımlı moleküllerdir bu her iki molekülde protein yapısında olan moleküllerdir (Murray, 2004). Bu düzenlemelerde sırayla aktif olan kinaz düzenlendikten sonra inaktif olana geçilir (Nigg, 1995). Hücrelerin kopyalanması devam ederken, metabolik aktivitelerinin düzenlenmesi ve bu evreleri kontrol eden siklin-bağımlı kinazlara (CDKs) rastlanılmaktadır. G₁ fazı hücrenin bölünüp bölünmeyeceğine karar verilen kısmıdır. Büyümeyi uyaran sinyaller hücrede D siklin ailesini artırır ve uygun CDKs ile aktive olur (Scriver ve ark.,2001).

Burada G₀ dinlenme fazına geçişte uyarılabilir. Hücre yaşam döngüsünün dışına çıkmıştır. Bu nedenle tekrar döngü başlayana kadar tekrar bölünmezler. Sinir hücreleri normalde de bu fazda olduklarından tekrar geri dönemezler (Zetterberg ve ark., 1982).

G₂ fazında hücrenin bölünmesinden evvel hasarlı DNA'nın tamir edildiği ya da engellendiği evreler bulunmaktadır. Bu döngünün evreleri onkogenler, siklinler, CDK gibi proteinler ve MPF (Maturation Promoting Factor) ile düzenlenmekte ve bu evrelerden birinde DNA hasarı olduğunda tümör baskılayıcı genler tarafından durdurulmaktadır. DNA hasarlı ya da dublike olmamışsa döngü M evresine girmeden G₂ evresinde durdurulmaktadır. Eğer hasar G₁ evresinde tespit edilirse tümör baskılayıcı gen (p53) tarafından p21 proteinin sentezlenmesi sağlanmaktadır. Siklin CDK kompleksi inhibe edilerek döngü G₁ ya da G₂ evresinde durdurulur ya da askıya alınır. Eğer hasar çok büyük ise p53 apoptoza neden olur (Pediconi ve ark., 2003).

Metafazdaki kontrol noktasında ise yerleşim kontrol edilir. Eğer düzgün yerleşim sağlanamışsa hücre metafazdan anafaza geçemez böylece mitotik evre tamamlanamaz (Karp, 2005).

2.1.3. Hücre Siklusu ve Kanser

Hücredeki bütün yaşamsal faaliyetlerin sorunsuz devam edebilmesi için çok sayıda görevlendirilmiş protein bulunmaktadır. Herhangi bir aksaklık çıktığında dahi proteinler kendilerine verilen görevi düzelterek devam etmeye uğraşırlar. Siklin ve Cdklar hücre bölünmesini teşvik ettiğinden onkogen olarak adlandırılır (Zhang, 2007). Bu kontrol proteinlerinin sentezi protoonkogenler ve tümör baskılayıcı (TSG: Tumor suppressor gene) genlerdir (p53, p16, p21). Normal şartlar altında protoonkogenler ve tümör baskılayıcı genler denge halindedirler. Bu dengenin protoonkogenler yönüne bozulması kansere engel olan bazı proteinlerin azalmasına ve kansere neden olabilirler. Çeşitli mutasyonlar DNA zincirinde bozulmalara neden olmaktadır. Çeşitli nedenlerle meydana gelen bu durumlardan dolayı TSG gen grubu susması bu duruma neden olmaktadır (Park ve Vogelstein, 2003).



(<http://time.com>, 2016).

Şekil 2: Büyümek için yapışmış bir kanser hücresi .

Kanser hücreleri ölümsüzdür ve sürekli çoğalırlar (Şekil 2). Telomerler kromozomların uç kısımlarında bulunurlar ve kesilerek kısaltılabilirler. Yaşam süresi kısaltmaya başladığında telomerler gitgide kısalırlar ve sonunda hücre ölüme gitmiş olur. Kanser hücrelerinin bir başka özelliğide kısalan telomerleri tekrar uzatabilmeleridir (Hahn, 2003). Apoptozis ise kısaca programlanmış hücre ölümüdür. Normal şartlarda DNA hasarları yaş ilerledikçe artar. Normal şartlar altında DNA hasarı Poly ADP riboz polimeraz gibi proteinler sayesinde DNA hasarı giderilir (Korkmaz ve ark., 2008). Bu

hasarlar ortadan kalkmaya devam etmez ise kaspaz adı verilen proteinler devreye girer ve hücrenin kendi kendini yok etmesini sağlarlar ve bu sayede apoptozis ile kanser hücresine dönüşmesi ihtimali olan hücrelerin tekrarlanmaması sağlanır (Okun ve ark., 2008).

Kısaca kanser, normal yaşam döngüsündeki genin bozulup düzensizleşmesi ve ölümsüz hale gelerek vücuda katkı sağlama gibi amaçlar gütmeyen bağımsız şekilde yaşaması ve vücuda iyi anlamda herhangi bir faydasının bulunmaması olarak tanımlanabilir (Riether, 2004).

2.1.4. Meme Kanseri

Meme kanseri Dünya’da kadınlar arasında en sık görülen malign tümör çeşitlerinden biridir. Kadınlarda diğer tümör çeşitlerine oranla %30’unu oluşturmaktadır. Avrupa’da 180.000 yeni olgu Amerika’da ise 184.000 yeni olgu ile karşılaşılmıştır. Hawaii, Kanada, Kaliforniya’da yüzde 80-90 görülme sıklığıyla ilk sırada yer alırken Japonya’da bu oran yüzde 14-15 arasında seyretmektedir. 1975’den bu yana Singapur ve Çin’de ekonomik gelir batıya benzemeye başladığından ayrıca doğurganlıkta aynı şekilde etkilendiğinden meme kanseri görülme sıklığı gitgide azalmaktadır. Avrupa ülkelerinde ise görülme sıklığı kuzey ülkelerden güneye ve batı ülkelerinde ise doğuya doğru gittikçe azalmaktadır. Meme kanserindeki en büyük artış sırasıyla Kanada, ABD, İspanya ve İsveç’te yaşanmıştır (Topuz ve ark., 2003).

Türkiye’de 1999 yılında 8.879 olan oran 2003 yılında 12.772’ye çıkmıştır. Ayrıca ülkemizde kanser türlerinin arasında %24.1 oranıyla meme kanseri oluşturmaktadır (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, 2001). Meme kanseri oluşumunda tek bir olgudan söz etmek olası değildir. Doğurganlık yaşı, çocuk sayısı, beslenme alışkanlığı, ekonomik durum çevresel faktörler göz önünde bulundurulmalıdır (Topuz ve ark., 2003).

2.1.5. Meme Kanseri ve Beslenme

Obeziteninde kadınlarda meme kanseri için önemli bir risk faktörü olduğu 1964 yılında Hollandada yapılan vaka-kontrol denemesiyle ortaya atılmış ve çeşitli ülkelerde kanılar desteklenmiştir. Obezitenin özellikle postmenopozal dönemde arttığını ve doz cevap ilişkisi şeklinde olduğu bildirilmiştir (World Cancer Research Fund, 2007).

Fiziksel aktivite, endojen steroid hormon mekanizmasını ve androjen hormon mekanizma düzeyini desteklemekte yine vücut yağ oranında aynı oranda desteklenmektedir. Aynı zamanda bağışıklık sistemide aynı oranda desteklenmektedir. Postmenopozal da etkiler net görülürken premenopozal da etkiler desteklenmektedir (World Cancer Research Fund, 2007). Düzenli olarak yapılan egzersiz üreme hormonlarını destekmekte, insüline hassasiyeti azaltmakta ; yağ dokusunu ve östrojen düzeyini azaltıp menstrüasyonun uzamasını sağlamaktadır (Rose ve Davis, 2010).

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar hayvan deneyleri, meme kanserinin hormona daha fazla bağımlı olduğunu ilk çocuk sahibi olunan yaş ve çeşitli faktörlerin meme kanseriyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Yapılan bazı çalışmalarda da yeme düzeninin değiştirilmesinin meme kanserini azaltmada etkili olduğunu göstermektedir (Brennan ve ark., 2010).

Yağdan zengin bir beslenme sonucunda, kandaki östrojen seviyesinin artması ve obezite ile etkileşimi sonucu postmenopozal dönemde meme kanseri riski artmaktadır. (Howe ve ark.,1990).

Meme kanserinin en yüksek olduğu Kuzey Amerika ve Batı Avrupada kırmızı et tüketimi fazladır. Kırmızı et tüketiminin riski arttığı söylenmesine rağmen beyaz et ve domuz etine dair net bir çalışma sunulmamıştır (Ronco ve ark., 2010).

1990 yılından bu yana aşırı karbonhidrat tüketiminin hem diğer kanser türlerini arttırdığı hemde meme kanserini olumsuz yönde etkilediği ortaya konulmaya çalışılmıştır. Meme kanserindeki asıl etkisi insülin ve kan şekeri düzeyi arasındaki ilişkiyle saptanmaya çalışılmıştır. Meme kanserinde karbonhidratın tam etkisi net değildir ama glikozun insülin düzeyi üzerindeki etkisi net bilinmektedir (Sieri ve ark., 2013).

Aynı zamanda alkol tüketim oranında artması meme kanseri riskini arttırdığı kanıtlanmıştır (World Cancer Research Fund, 2007).

Düzenli ve düzgün meyve sebze tüketiminde meme kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir. Meyve ve sebzeler lif, antioksidan, vitamin ve mineraller ile lignan, flavonol gibi antikarsijenik bileşikler gibi koruyucu maddelerde içermektedir (Willet, 2008).

2.2.BAKTERİ

2.2.1. Bakterilerin genel özellikleri

Bakteriler basit yapılı, tek hücreli organizmalardır. Boyutları 0.2-0.5 µm'den 40-60 µm'ye kadar değişebilmektedir (Aydın, 2000). Sahip oldukları genetik materyalleri herhangi bir hücre duvarıyla çevrili olmadığından prokaryot olarak da adlandırılırlar. Bakteriler genel şekilleri itibariyle çubuk, kok, spiral, küresel şekillerde bulunurlar. Çok sık görülmesine de yıldızimsı ve köşeli şekillerde bulunan bakterilerde mevcuttur. Bakterilerin sahip olduğu peptidoglikan tabaka karbonhidrat ve protein yapılıdır. Çoğunlukla ikiye bölünerek çoğalırlar. Beslenme durumları için bazı bakteriler fotosentez yaparken bazı bakteriler inorganik bileşiklerle beslenirler. Hareket etme yetenekleri sahip oldukları flagella adı verilen kamçılar sayesinde (Güven ve ark., 2011).

Bakteriler su, toprak, bitki, hayvan her yerde bulunurlar. Genellikle çok hızlı üreme gösterirler. Tipik olarak ikiye bölünme hareketiyle çoğalırlar (Şahin, 1999).

2.2.2. Gram pozitif bakterilerin genel özellikleri

Gram pozitif bakterilerde peptidoglikan tabaka ve sitoplazmik membran ard arda dizilmiştir. Sahip oldukları peptidoglikan tabaka teikoik asitce zengindir. Bu nedenle alan açısından gram pozitif bakteriler daha fazla yer kaplarlar. Bu hücre duvarı gram pozitif bakterileri lizis ve mekanik etkilere karşı korur. (Erdoğan ve Everest, 2013).

2.2.3. Gram negatif bakterilerin genel özellikleri

İkinci bir dış membrana sahiptirler. Gram pozitiflerden farklı olarak önce sitoplazmik membran ardından ince bir peptidoglikan tabaka ve tekrar bir membrana sahiptirler. İnce bir peptidoglikan tabakaya sahip olduklarından ardından gelen diğer tabakanın ismi LPS (lipopolisakkarit) tabakasıdır. Bu tabaka gram pozitiflerde olduğu gibi osmotik basınca karşı korumanın yanı sıra gram negatifleri hidrofobik etkilerini artırır. Ayrıca patojenlere karşı dirençli olmasını sağlar. Dirençli olması onları daha dayanıklı ve patojen hale getirir (Aydın, 2000). LPS, aşırı hidrofobiklerin girişini engellerken aynı zamanda porin kanallarıyla hidrofiliklerinde hücre içine girişini engellerler (Erdoğan ve Everest, 2013).

2.2.4. Bakterilerin hücre yapısı

Bakterilerin çoğunluğu tek kromozomlu hücreye sahiptirler. İnsanların 46 kromozomu vardır ve membranla çevrili olup insan hücresinin ortasında yer alırlar (Aydın, 2000). Beslenme yetenekleri gelişmiştir ve bunu basit olarak sağlayabilirler. Hücre yapıları dıştan içe doğru hücre duvarı, sitoplazma zarı ve sitoplazmadan oluşmaktadır. Herhangi bir zarla çevrili gerçek çekirdekleri yoktur. Sitoplazmada herhangi bir yerde bulunan çekirdeklere sahiptirler (Şahin, 1999). Memeli hücrelerinde olduğu gibi golgi, endoplazmik retikulum, mitokondri bulunmaz (Aydın, 2000). Hücre yapılarının büyük bir çoğunluğu %75-80'i su % 15-30 kuru maddeden oluşmaktadır. Kuru maddenin %50'si protein, %10'luk bir kısmı yağ, %10-20'si RNA, %20'lik bir kısmı hücre duvarı ve %3-4'ü ise RNA'dır. Bakterilerin ana yapılarını genel olarak endospor, flagella ve pili, karboksizom, ribozom, gaz vezikülleri, klorobium vesikülleri, kapsül, ribozom ve bakteriyel kromozom olarak tanımlayabiliriz (Şahin, 1999).

Hücre duvarı : Sitoplazma ve kapsül arasında bulunan ve çok tabakalı bir yapıdadır. Peptidoglikan ismini alır. Gram pozitif ve Gram negatiflerin hücre duvarları farklılık gösterirler (Bağlan, 2003). Sahip oldukları bu peptidoglikan tabaka N-Asetil glukazamin (NAGA) ve N-Asetil muramik asit (NAMA) heksoz şekerlerine sahiptirler. Bakteriye basınca karşı koruma görevini de üstlenmişlerdir. Hücre duvarı gram pozitiflerde gram negatiflere göre daha kalındır (Aydın, 2000).

Sitoplazma Zarı : İnce bir zardır hücre duvarının altındadır ve bakteriyi korumakla görevlidir. Herhangi bir hasara uğradığında bakteride bu durumdan olumsuz etkilenir. Bakterinin ölümüne neden olabilmektedir (Şahin, 1999).

Sitoplazma : Berrak yapıda bulunmaktadır. Kimyasal reaksiyonların oluştuğu ve hücrenin yapı maddelerinin sentezlendiği alandır (Şahin, 1999).

Çekirdek : Bakteride bulunan çekirdek DNA (deoksiribonükleik asit) az olarak RNA (ribonükleik asit) içerir. Bakteriler çekirdek zarı ve çekirdekçik içermezler (Şahin, 1999).

Kapsül : Hücresel fonksiyonlar için çok gerekli bir organel değildir. Maddelerin depo edilmesine ve zararlıların uzaklaştırılmasında kullanılır. Bakterilerde hastalık yapma etkenlerinden biride sahip oldukları kapsüllerdir (Şahin, 1999).

Kamçı (flagella): Bakterilerde hareket yeteneğini sağlarlar (Şahin, 1999). Bu flagellalar flajellin adı verilen proteinlere sahiplerdir. Flagellalar yaklaşık olarak 12-18 nm çaplı ve 15-25 mm uzunluğunda ipliksi yapıdadırlar. Bazı bakteriler spor adı verilen kitin tabakalı bir dış zar oluşturabilirler. Genellikle bu zar vejetatif formda bulunur. Bu zarın amacı dezenfektenden, kuruluk gibi olumsuz şartlardan kendilerini korumak içindir (Aydın, 2000).

2.2.5. Escherichia coli genel özellikleri

Enterobacteriaceae sınıfının bir üyesidir. Gram negatif , çubuk şeklinde fakültatif anaerob, kirpikli bir yapıda kapsülleri olan bir bakteridir. Boyut olarak 1 veya 2 µm boyutlarındadır (Kayser ve ark., 2002).

Doğal olarak yaşam alanları insanların ya da hayvanların bağırsak epitelleridir. Suda ve besinlerde sık sık *E.coli* ile karşılaşılır. Genel olarak kuvvetli bir patojendir. İnsan bağırsaklarında pek çok patojenitesine rastlanır. Eğer uygun ortam sağlanırsa bağırsak dışında da üretilme imkanları vardır (Kayser ve ark., 2002).

2.2.5.1. Escherichia coli neden olduğu hastalıklar

E.coli'nin başlıca neden olduğu hastalıklar arasında gastrointestinal rahatsızlıklar gelir. Mide bulantısı, baş dönmesi ve ishale neden olmaktadır. Başlıca kaynak olarak hayvanlar ve hayvansal içerikli gıdalardan ve sulardan bulaştığı

bilinmektedir. En hızlı yayılma şekli insanların işleri dolayısıyla temas içinde buldukları hayvanlardan ya da indirekt ya direkt olarak hayvan dışkılarıyla etkileşim halinde olması söylenebilir. Önemli kaynaklarından birini hayvansal gıdalar oluşturmaktadır. Çiğ olarak yenilen et ve sebze meyvede de bol miktarda bulunmaktadır. Sebze ve meyve yetiştirilirken ortama giren hayvanlar ya da çiftçinin sulama yaptığı suyunda kontamine olması açısından büyük bir önemi vardır. Çiğ sütte de yüksek oranda buna neden olabilmektedir. Sağım yapılırken hayvanın meme başı temizliğine oldukça fazla dikkat edilmelidir. Çünkü kontamine riski çok fazladır. Bu nedenle çiğ et ve süt tüketimi azaltılmalı. Sebze ve meyveyi tüketirken güvenli yerler tercih edilmelidir (Temmelli, 2002).

2.2.6. *Lactobacillus sp. genel özellikleri*

Lactobacillus cinsi bakteriler *Lactobacillaceae* familyasına aittirler. Bu bakterilere laktik asit bakterisi de denilmektedir. Gram pozitif, hareketsiz, fakültatif anaerob ve basil yapıdadırlar. Bazı türleri kokobasildir (Tunail ve Köşker, 1989).

Gelişebilmeleri için aminoasit, nükleik asit, peptit vitamin, yağ asidine ihtiyaç duymaktadırlar (Yetişmeyen, 1995). 30 ya da 40 °C'de daha iyi gelişebilirler. Laktik asit ürettikleri için aside karşı dayanıklıdırlar (Arda, 1985).

2.2.6.1. *Lactobacillus sp. neden olduğu hastalıklar*

Doğada en yaygın olarak bulunan bakterilerden biri olduğundan dolayı insan ve hayvanların ağız ve bağırsaklarında bol miktarda bulunurlar. Yoğurt, süt, peynir, salamura gibi besinlerde bulunur. Karbonhidratı laktik asite fermente edebilirler. Bitkisel ve hayvansal gıdalarda ekşimeye neden olup besin zehirlenmelerine yol açabilirler. *L.lactis* türü yüksek sıcaklıklarda sütü ekşitir ve koagüle eder. Yine başka bir türü olan *Listeria* kanalizasyon sularında bulunur. İçme suyuna karıştığında kanlı ishale neden olabilir. *Corynebacterium* cinsi genellikle gıdalarla bulaşır ve difteriye neden olur (Milli Eğitim Bakanlığı, 2006).

2.2.7. *Staphylococcus aureus genel özellikleri*

Micrococcaceae familyasında yer alan *Staphylococcus* gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, hareketsiz katalaz pozitif bakterilerdir. Herhangi bir ısı

işlem uygulandığında diğer bakterilerin gelişimine engel olabilmektedir (Küçükçetin ve Milci, 2008).

Mezofil karakterlidirler. 30 ya da 37 °C'de gelişirler. Toksin oluşturmak içinde 10-48 °C'yi kullanırlar. Ph olarak genellikle 7.0-7.5 seçerler. Gelişmek için ise sınırları 4.0- 9.3 Ph'dır. Burun ve boğaz boşluğunda bulunurlar. Deride, yüzde, ellerde, kollarda bol miktarda bulunur (Ankara Üniversitesi, 2005).

2.2.7.1. *Staphylococcus aureus* neden olduğu hastalıklar

İnsanlarda menenjit, septisemi, iltihaplı yaralara neden olmakla birlikte eklem romatizması ağrılarında da neden olabilmektedirler. Doku toksinlerinin yanı sıra bağırsaklarda enterotoksinlere de neden olabilmektedir (Ankara Üniversitesi, 2005).

Patojen türler içeren *Staphylococcus aureus* ve gıda kökenli rahatsızlıklara neden olurlar. Sığırlarda mastisite neden olurlar. Yüksek sıcaklık uygulamalarına dayanıklılık gösterirler. Genellikle en fazla süt ve süt ürünlerinde ayrıca deniz canlılarında bol miktarda bulunurlar (Milli Eğitim Bakanlığı, 2006).

2.2.8. *Pseudomonas aeruginosa* genel özellikleri

Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Pseudomonas* gram negatif, aerob çubuk şeklindedirler (Saran ve Karahan, 2010; Milli Eğitim Bakanlığı, 2006).

Pseudomonas cinsi bakteriler genel 1.5-3 µm arasında değişen genişlikteki boyutlara sahiptirler. Sporsuz ve kapsülsüz yapıdadırlar. Bazen uçlarında bir kirpik nadiren de uçlarında iki ya da üç kirpik bulundururlar. Boyama yapılmak istendiğinde içine boyayı çok kolay alırlar. Uzun süre bekleyen kültürlerinde kısa ve çok yapıda hareketsiz yapıda olabilirler (Şen ve Halkman, 2006).

Genel olarak alkali ortamlarda 30-37 °C'de kolaylıkla büyüebilirler. Düzgün pasajlamada 41-42 °C'ye kadar da üreyebilirler. Sıvı besiyerinde zar yaptığından dolayı daha yoğun ve homojen olarak çoğalırlar. Zardan dolayı mavi- yeşil pigment hemen gösterebilirler (Şen ve Halkman, 2006).

2.2.8.1. *Pseudomonas aeruginosa* neden olduğu hastalıklar

Pseudomonas aeruginosa'nın sahip olduğu ekzotoksin ve enterotoksin özelliklerinden dolayı fırsatçı patojen olarak adlandırılmaktadır. Yara yanık, idrar yolları

enfeksiyonları, bronşit, menenjit, septisemi, osteomyelit, orta kulak iltihabı gibi hastalıklara neden olabilmektedirler. Yeni doğanlarda ishale sıkça neden olabilmektedir. Hastanelerde yatarak tedavi edilen hastalardan immun sistemi zayıflamış olanlarda ölüme neden olduğu tespit edilmiştir. Yapılan başka bir araştırmada süt yoluyla 1946 yılında 409 hastanın teması sonucunda akut epidermik gastroenteritidise neden olmuştur. Şiddetli karın ağrısı ve diyare sonucunda 9 yeni doğan bebek ölmüştür (Şen ve Halkman, 2006).

Gıda üzerinde kuvvetli bir hastalık etmenidir. Aerobik olmaları nedeniyle besinlerin üzerine yerleşip mukoz tabaka oluştururlar. Psikrofil ve mezofil türlere sahiptirler. Bazı gıda maddeleri üzerinde kahverengi, sarı, yeşil renk oluştururlar. Soğukta saklanmalarına rağmen et, balık, yumurta, tavuk üzerinde önemli bir bozulma etkenidir (Milli Eğitim Bakanlığı, 2006).

2.2.9. *Klebsiella pneumoniae* genel özellikleri

Enterobacteriaceae ailesine ait olan *Klebsiella pneumoniae* diğer familya üyelerinde olduğu gibi gram negatif, hareketsiz, sporsuz genellikle kapsülsüz basillerdir (Saran ve Karahan, 2010).

1-2 µm boyunda ve genişlik olarak ise 0.5-0.8 µm boyutlarındadır. Etrafında geniş bir kapsül tabakası bulunmaktadır. Bakteri tayinininde kullanılan boyalarla iyi bir şekilde boyanırlar. Fakültatif anaeroplardır. Çoğalma koşullarının en uygunu 37 °C'dir. Bu suşa ait olmayanlar 4-44 °C'de dahi çok iyi büyüeyebilirler (Bilgin, 2006).

2.2.9.1. *Klebsiella pneumoniae* neden olduğu hastalıklar

Klebsiella pneumoniae sağlık için önemli olan üst solunum, üriner sistem rahatsızlıkları, nazokomiyal enfeksiyonlara neden olduğundan dolayı fırsatçı bir patojendir. %5 ya da %10 oranında üst solunum yollarında bulunurlar (Aladağ ve Durak, 2007).

Klebsiella'ya maruz kalmış kişilerde genellikle titreme, ateş, şiddetli ağrılar söz konusudur. Hastalarda çok miktarda balgam yapar. Genellikle gram negatif bakterilerdeki ölüme neden olma oranı *Klebsiella pneumoniae*'den iki kat daha fazladır.

İdrar, menenjit hastalıkları ise diğer gram negatiflerle aynı şekilde seyreder (Bilgin, 2006).

Klebsiella'nın iki doğal yerleşim yeri vardır. İlki su, toprak, lağam, bitki yoluyla ikinci yolu ise domuz, insan ve atlardır. İnsanlarda nazofarenks yolla %1 ya da %6 iken gaita yoluyla ise %5 ya da %38 oranlarında değişmektedir. Hastanelerde kontaminasyon kan ürünlerindeki medikal aletleri elleme ya da hastaların gastrointestinal yollardan birine hasta bakıcıların ya da temizlik görevlilerinin direk elle temaslarındandır (Aydoğan ve Başustaoglu, 2000).

2.2.10. Bakterilerin sağlık üzerine olumlu ve olumsuz etkileri

Bakterilerin olumlu ve olumsuz olarak insan sağlığı üzerine çeşitli etkileri vardır. Olumlu olarak genellikle probiyotik ve prebiyotik olarak gastrointestinal sistemde bazı bakteri suşları kullanılmaktadır. Probiyotik olarak en çok tercih edilenler *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleridir. Kullanılan bu ajanlar patojen özellik taşımamalarının yanı sıra insana karşı uyumlu olmalıdırlar. İmmun sisteme uyumlu olmalılar ve antimikrobiyal etki gösterebilmenin yanı sıra gerek midenin gerekse bağırsağın sahip olduğu asidik yapı ve safra tuzlarına karşı dirençli olabilmelidirler. Probiyotikler genel olarak laktoz intoleransını en aza indirir. Bunun dışında diyareyi önler. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunu en aza indirir. Kolit hastalığı, Crohn hastalığı ve rahatsız bağırsak sendromunu en aza indirdiği tespit edilmiştir (Uymaz, 2010).

Bakterilerin yararlı özelliklerinin yanında bilinen pek çok hastalığa da neden olmaktadır. Bakteriler buldukları her ortama kolaylıkla adapte olabilirler. En iyi adapte olduğu yerlerden biride insan vücududur. İnsanlarda ve hayvanlarda hastalık yapmasının yanı sıra bitkilerde de hastalıklara neden olmaktadır. En çok bilinen hastalık etmenleri arasında sindirim sistemi bozuklukları, karbonhidrat zehirlenmesi, sinir sistemi rahatsızlıklarıdır (Özkaya ve Cömert, 2008). İlk aşamaları kolonize olmalarıdır. Bir diğer aşaması da konakçısına yapışmasıdır. Yapıştıktan sonra invaziv duruma geçerek salgılarını konağa bırakırlar. En son aşama olarak ise artık toksisite duruma geçerler. Bilinen pek çok invazin durumu söz konusudur. Kollejenazlar kaslardaki kolajene zarar vererek onları eritirler. Hemolizinler kırmızı kan hücrelerinde lize neden olurlar. Koagülazlar fibrinojeni fibrine dönüştürüp pıhtılaşmaya neden olurlar. Fosfolipazlar hücre membranındaki fosfolipidleri lize ederler (Telli ve Doğruer, 2013).

2.3. PROPOLİS

2.3.1. Propolis Tanım ve Tarihçesi

Günümüzde doğal ve kaliteli ürünlerin artmasıyla beraber sentetik ya da ambalajlanmış ürünlerin tüketimi ve satış hızı azalmıştır. Doğal ürünlerden biri olan propolisin tüketimi buna bağlı olarak artmıştır. Bal arısının bu ürüne ‘Apiterapi’ de denilmektedir (Atik ve Gümüş, 2017).

Propolis ilk kez Yunanlılar tarafından doğal antibiyotik adıyla keşfedilmiştir. Yunanlılar o dönem propolisi antibiyotik olarak kullanmışlardır. Polis ‘şehir’ ve pro ‘ön’ anlamına gelmektedir. Şehirden önce anlamına gelmesinin nedeni arıcıların arıların kovanın ön kısmını propolisle kaplamasından gelmektedir. 1960 yıllarından önem görmüş ve 40 yıl üzerine çalışılmıştır. Propolis ile ilgili ilk çalışmalar Ghisalberti tarafından 1979 yılında yapılmıştır. Farmakolojik, kimyasal ve fiziksel fonksiyonları aydınlatılmış ve aydınlatılmaya da devam etmektedir. Bugüne kadar 180 farklı bileşik içerdiği bulunmuştur. Bulunduğu koşullar ve şartlara göre de balmumunun özellikleri değişmektedir. Yaklaşık olarak bal arıları 67 türden propolis topladığı tespit edilmiştir (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

Propolisin rengi reçinenin rengine bağlı olarak sarı ya da kahverengi renklerde olabilmektedir. Çok esnek ve yapışkan bir yapıdadır. 15 °C’de daha kırılğanken 45-65 °C’de daha yapışkandır. 60-70 °C’de artık sıvı hale geçer (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

Propolis ve bal çok sayıda benzer flavonoid içermektedir. Propolis Ma, Ca, Fe, Mn, Cu gibi pek çok elementin yanında B₁, B₂ ve C gibi vitaminlerde bünyesinde barındırmaktadır (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

İşçi arılar propolisi kovanı korumak için ya da böcek gibi zararlıların geçişine engel olmak için kullanmak için etrafa yapıştırılmaktadırlar. Toplanan her farklı propolis örneği kimyasal özelliği açısından farklı kompozisyonlara sahiptirler. Ham propolisin de bileşim kaynakları farklıdır. %50 reçine, %10 esansiyel ve yağlar, %5 polen ve %30 mum %5 diğer organik elementlerden oluşmaktadır (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

2.3.2. Propolis fiziksel özellikleri

Değişik özelliklere ve kimyasal kompozisyonlara sahip propolisin rengi ve kokusu pek hoş değildir. Rengi sarıdan kahverengiye bazen de yeşile kadar değiştiği Şekil 3'teki gibi görülmüştür. Avusturalya propolisi rengi siyah, Finlandiya portakal rengi, Küba ise eflatuna çalan renktedir. Kokusu ise reçinemsi bir kokudur (Çelemler ve Özkırım, 2011).



(Tezimizden, 2017).

Şekil 3: Toplanmış ham propolis.

Bitkilerde filiz ve tomucuklardan toplanan bu ham reçine ve çeşitli bitki salgıları bal arılarının salgıladıkları çeşitli enzimlerle biyokimyasal açıdan değişikliğe uğratılmışlardır. Bitkiler aracılığıyla elde edildiğinden dolayı içeriklerinde bitkilere özgü bazı proteinleri de bolca taşırlar. Sahip oldukları bu mum tabakanın bitkisel yapıda olduğu belirgindir. Çok yüksek olmayan sıcaklıklarda bu mum tabaka kırılabilir yapı göstermekteyken yüksek olan sıcaklıklarda yumuşak bir hale bürünmektedirler. Propolis kloroform, eter, aseton gibi çözücülerde kısmen %95'lik alkolde tamamen suda ise hiç çözünmemektedir. Günlük tüketim ve tıbbi alanda ise %70'lik alkoldeki çözelti kullanılmaktadır (Kumova ve ark., 2002).

2.3.3. Propolis kimyasal özellikleri

Propolisin kimyasal özelliklerine dair araştırmaların çoğu hız kazandığı 20. yüzyılın başlarından itibaren ortaya konulmuştur. Kimyasal özelliği arının ırkı,

bitkilerin gösterdiği özellikler ve ekolojik koşullara göre farklılıklar göstermektedir. Yapısında 150'den fazla kimyasal bileşik 20 çeşit mineral ve vitamin kompozisyonuna sahiptir. Yapısında balmumu ve polende bulunmaktadır. Flavonoidler, antifungal, antiviral, antimikotik etkileri de barındırmaktadır (Kumova ve ark, 2002). Ham propolis de bileşim kaynakları farklıdır. %50 reçine , %10 esansiyel ve yağlar, %5 polen ve %30 mum %5 diğer organik elementlerden oluşmaktadır (Doğan ve Hayoğlu , 2012).

Propolisin sahip olduğu kimyasal özelliklerden biri olan flavonoidler elde edildikleri bitkiye göre farklılık gösterirler. Propoliste flavonoid oranı %25 üzerindedir. Bilinen flavonoidlerin en önemli özelliklerinden ikisi serbest radikalleri temizlemesi ve lipid peroksidasyonunu inhibe etmeleridir (Özan ve ark., 2015).

Propolis Ma, Ca, Fe, Mn, Cu gibi pek çok elementin yanında B₁, B₂ ve C gibi vitaminlerde bünyesinde barındırmaktadır (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

Propolis serin, glutamikasit, sistin, lizin, aspargin, levsin, fenilalanin, glikol 8 ve 17 çeşit arası amino asit içermektedir. Arıların tükürük bezinden salınan bazı maddelerin propolise karıştığı işaret edilmiştir. Bazı yağ asitlerinde karıştığı işaret edilmiştir. Bu yağ asidinin bilineni 10-hidroksi-2-dekanoik'tir. Bu salgılanan madde arı sütünün temel taşıdır ve propolisin içinde %7.2 kadarı bulunmaktadır (Özan ve ark., 2015).

2.3.4. Propolisin biyolojik özellikleri

Arıların doğadan topladığı propolis insan yaşamı açısından son derece büyük bir öneme sahiptir. Eski çağlardan bu yana insanlar propolisten yararlanmışlardır. Eski çağlarda yapılan cerrahi müdahalelerde yara üzerini tıbbi mumla kapatmak yerine hem yaranın çabuk iyileşmesi için hem de merhem olarak kullanmak için propolisi tercih etmişlerdir. İnsanlar propolis üretemezler ama propolisi üreten arılar içinde büyük

önemleri vardır, kovanda hijyenin sağlanması ve kovayı korumak amacıyla propolisi aktif olarak kullanılmaktadırlar (Kumova ve ark., 2002).

Propolisin yapısında bulunan flavonoidler ve terpenler kuvvetli antioksidan ve antistabil etkili bileşiklerdir. Organik çözücülerde en iyi çözünen bileşikler flavonoidlerdir ve bitkinin her yerinde bulunurlar ve pigment içerirler. Flavonoidlerin mide sağlığında, kalp-damar sisteminde yararlı olduğu kılcal damar çatlaklarını azalttığı gibi özellikleri bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur. Propolisin ana bileşik olan kafeik asit antimikotik ve antiviral etkisinin yanı sıra kuersetin ve lutein ile birlikte antikanser etkiye sahiptir. Sahip olduğu kafeik asit ve diğerleri grip ve uçuk tedavisinde de kullanılmaktadır. Propolis sahip olduğu biyoflavonoidlerle virüsleri protein kılıfının içine hapsederek antiviral etki gösterir. Propolis iltihaplara karşı kullanılabilen önemli bir bileşiktir. Hipertansiyon ve damar sertliğinde propolis kullanmanın olumlu sonuçlar verdiği kanıtlanmıştır. Romanya'da ülser tedavisi için propolis kullanılmaktadır. Histamin ve serotonin kaynağı da olduğundan alerjiye karşı da etkisi bulunmaktadır (Kumova ve ark., 2002).

2.3.4.1. Antioksidan

Antioksidan için en çok kullanılan tanım; İnsanlarda fizyolojik şartlar sonucu oluşan SOR (serbest oksijen radikalleri) veya SNR (Serbest Nitrojen Radikalleri) her ikisi ya da herhangi birinin zararlı etkileri azaltan maddelerdir. Enzimatik ve non-enzimatik olarak ikiye ayrılırlar. Enzimatik olanlar katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) vb. enzimler sayılabilirler. Non-enzimatik olarak ise magnezyum, selenyum, mineral, vitamin (A, E, C) kısaca vitamin ve mineraller sayılabilirler (Yılmaz, 2010).

Sahip oldukları özelliklerden dolayı gıda yoluyla vücuda girebilen antioksidanlar oksidasyonu engellediğinden antikanser, antiviral, antifungal, malarya, ateroskleroz, antitrombotik, antiülser, antiaging özelliklere sahiptirler (Yılmaz, 2010).

Antioksidanlar aynı zamanda enzimler kadar membrandan hızlı bir şekilde geçemezler ve yarı ömürlüdürler bu nedenle biyofarmasötik açısından sorun teşkil etmektedirler. Bu sorunlardan ötürü lipozomal antioksidan tanımı ele alınmıştır. Bu tanım yağ ya da suda çözünebilen kimyasal ya da enzimatik antioksidan tanımlamaları

ifade etmektedir. Lipozomların sahip olduğu özelliklerden dolayı kanser tedavisinde olumlu etkiler yaratabileceği vurgulanmıştır. SOD ve CAT lipozomal antioksidanlardandır. Bu nedenle yapılan çalışmada endotelial hücre tedavisinde olumlu sonuç doğurabileceği vurgulanmıştır. Vitamin C ve E'de lipozomaldır ve beraber alındıklarında şeker hastalarında lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmiştir. Magnezyum hücre duvarının stabilitesinin sağlanmasında ve bazı enzimlerin yapısında bulunmaktadır. Bu nedenle korneal ve retinal fonksiyonların devamı için önemlidir. Magnezyum gibi çinkoda pek çok elementin yapısında ve SOD ve CAT gibi enzimlerin yapısında bolca bulunmaktadır (Yılmaz, 2010).

2.3.4.2. Flavonoidler

Biyolojik sistemlerde aerobik koşullarda prooksidanlar olarak bilinen reaktif oksijen ürünleri (ROS) oluşur. DNA, protein ya da lipidlerin prooksidanlardan korunmak için hücrenin eksojen ya da endojen antioksidanlara gereksinimleri vardır. Vücutta bu prooksidanlar arttığında kardiyovasküler, kanser gibi pek çok etki meydana gelmektedir. Antioksidanlar prooksidanlar (ROS) engellemekte ya da azaltmakta görev alırlar. Ekzojen olarak kullanılan antioksidanlar gıda yolu ya da dışarıdan alınan antioksidanlardır. Bunlar vitamin, mineral ve flavonoidlerdir (Kahraman ve ark., 2002).

Flavonoidlerin çalışmaları yaklaşık olarak 20 yıla dayansa bile antioksidan özelliklerinin yanı sıra antiinflamatuvar, antiviral, antitrombosit, antikanser etkileri olduğu sıkça bildirilmiştir. 4000 fazla türü vardır. Çay, elma, baklagil, kırmızı şarap ve soğanda bolca bulunmaktadır (Kahraman ve ark., 2002).

Sarı renkte olmalarından dolayı latince flavus 'sarı' sözcüğünden nitelendirilerek flavonoid adını almışlardır. 15 karbon yapısına sahiptirler. 2- fenil benzopiron yapısı gösterdiklerinden dolayı polifenolik bileşikler olarak kabul edilirler. Yaklaşık olarak altı türü vardır. Flavonon, flavonol, bioflavonoid, flavon, kalkondur. Genel özelliklerinden dolayı P vitamini adını da almışlardır. Meyve ve sebzelerde bol miktarlarda bulunmaktadır (Kahraman ve ark., 2002).

Canlı organizmalarda ise antikanser özelliklere sahiptirler. Hücreler arası iletişimi arttırırlar ve hücre proliferasyonunun etkisini kontrol ederler. Laktattın

transportunu inhibe ederler ve nitrikoksit sentezinin regülasyonunu düzenleyerek antikanser etkiyi gösterirler (Kahraman ve ark., 2002).

Antiviral etki olarak ise flavonoidlerin proteinlere bağlanma nedenleridir metil kuersetinin poliovirüsün replikasyonunu ve hücresel protein sentezini etkileyerek sağladığı tespit edilmiştir (Kahraman ve ark., 2002).

Antiinflamatuvar etki olarak ise mast hücre ve histamin salımını engelleyerek lukotrien salınımının kontrolünü sağlar. Antiallerjik ve antitrombotik etkilere de sahiptirler. Serbest radikalleri yakalayarak aterosklerozisi de engellenir (Kahraman ve ark., 2002).

Yeşil çay, beyaz çay, siyah çay, sarı sebze ve meyvede, kırmızı şarap ve soğanda bol miktarda bulunmaktadır (Kahraman ve ark., 2002).

2.3.5. Propolis antimikrobiyal özellikleri

Güçlü antimikrobiyal etkisi dolayısıyla ‘doğal antibiyotik’ denilen propolis mantar, küf, bakteri ve parazitler üzerine etkili olduğu bildirilmiştir. Düzenli ve kontrollü bir şekilde alındığında vücutta patojenlere karşı etki gösterdiği bulunmuştur. İn vitro çalışmalarda da propolisin antibiyotik etki süresini arttırdığı ortaya konulmuştur. Antibakteriyal etki sağlamanın nedeni sahip olduğu kafeik asitin hücre bölünmesini etkin bir şekilde kontrolünü sağlamasından dolayıdır. Antiviral özelliğine bakılarak yapılan çalışmalarda ise HIV virüsüne karşı olumlu etkiler gösterdiği bulunmuştur. Üst solunum yolları ve kulak iltihaplarında da kullanılan propolisin etkili sonuçlar ortaya koyduğu gösterilmiştir (Yılmaz ve ark.,2004).

Araştırmacılardan bazıları sadece gram pozitif ve mantarlara karşı propolisin etkili olduğunu söyleselerde bazı gram negatiflerde de az da olsa etkisi bulunmaktadır. Bünyesinde barındırdığı flavonoidler, kafeik asit, benzoik asit muhtemelen hücre duvarı ve zarına zarar vererek fonksiyonel hasara da neden olmaktadır. Farklı illerden toplanan propolisler farklı kimyasal özelliklere sahip olduğundan heterojen bir karışım hazırlamak zordur (Özan ve ark., 2015).

Brezilya’da yapılan bir çalışmada farklı mevsimde toplanan propolis örneğinin gram pozitiflerde daha iyi sonuç verdiği gram negatiflerde etkisinin az olduğu ortaya konulmuştur (Seven ve ark., 2007).

2.3.6. Propolisin deneysel olarak kullanım alanları

Hücre yenilenme ve tedavi edici özelliğinden dolayı propolis dermatoloji ve kozmetik alanında sıklıkla kullanılmaktadır. Bakterisit ve viral öldürme açısından kozmetikte bolca tercih edilmektedir. İçeriğinde bulunan arısütü ve E vitaminiyle cildi beslediğinden ve zararsızca temizlediğinden dolayı tercih edilmektedirler. Diş macunu, losyon, krem, vücut sprelerinde bol miktarda kullanılmaktadır (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

Kardiovasküler, kan dolaşımı, solunum, deri hastalıklarında ilaç sanayinde de sıkça propolis kullanılmaktadır. Geleneksel hekimlikte sık sık kullanılan propolis elde etme zorluğu ve standartizasyon zor olduğundan dolayı ilaç sanayinde çok sık tercih edilmemektedir. Kuzey Amerika ve Avrupa'da sıklıkla damla, pastil, ciklet olarak satışa sunulmaktadır. Virüs, grip, üst solunum ve çeşitli hastalıklara iyi geldiğinden dolayı propolis doğal yoldan tercih edilir. AIDS çalışmalarında da olumlu sonuçlar vermeye başladığı bilinen bilgiler arasındadır (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

Sahip olduğu antibakteriyal, antiviral özelliklerle gıda sanayinden de propolis sıklıkla kullanılmaktadır. Balık stokları için ömür uzattığı ve gıda paketlememede de etkili olduğu ve koruyucu olarak kullanılmasının yanı sıra yapılan bir çalışmada ızgaralık piliçler için kilo artışını sağladığı bulunmuştur (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

Propolis çimlenmeyi engellediğinden dolayı yumrulu bitkileri saklama koşullarında da propolis kullanılır. Mobilya sanayinde cilalamada da kullanılabilir. Evcil hayvanların deri ve ayak problemlerinde de sıkça propolis kullanılmaktadır (Kumova ve ark., 2002).

Türkiye'de arıcılar propolis gelir kaynağı olarak görmediğinden üretimi azdır. Bu durum bu kadar pozitif etkileri olan bir bileşenin daha kullanım ve elde edilecek gelirin düşüsüne neden olmaktadır (Doğan ve Hayoğlu, 2012).

2.4. SOĞAN

2.4.1. Soğan Tanım ve Tarihçesi

Allium cepa, Alliaceae (Soğangiller) familyasındandır. Daha önceleri Zambakgiller (Liliaceae) ailesinden olduğu söylenmiştir (Brewster, 1994). Soğan aynı yıl kullanılan bir bitkidir. Soğan başı yassıdır. Üzerinde iki veya üç katlı zar bulunmaktadır. 20-30 cm ve küresel ya da armuda benzemektedir. Doğal yaşamda pek çok yabani tipi mevcuttur. Kökü 100 cm'ye varan uzunlukta ve 30 cm'ye kadar incelik ve hafifçe şişkindir. Esas olan yaprakları uzun ince ve yeşil renktedir. Çoğunlukla bir ya da iki yıllıklardır. Çiçekleri küre şeklinde ve pembe ya da beyazdır. Tohumları genellikle siyah renktedir (Dinçoğlu ve Temamoğulları, 2010).

Çeşitli renklerde olan soğanın kırmızı renkte olan basık bir yapıya sahiptir. Lezzetli ve etlidir. Bunun yanı sıra tedavide de sıkça kullanılmaktadır (Dinçoğlu ve Temamoğulları, 2010).

Dünyanın her tarafında yetişebilen soğan genellikle ılıman iklimde daha yaygındır. Türkiyenin hemen hemen her yerinde rahatlıkla yetiştirilir ve tüketilir. Yörelere göre soğan beyaz küre olarak bilinir ve İspanyol Soğanı denir. Ceba:pulp demektir ve Latince'de *Allium cepa* denilir (Dinçoğlu ve Temamoğulları, 2010).

Geleneksel antik Yunan'da en başlarda sporcular tarafından kullanılırdı. Çok miktarda yenildiğinde kan dengesini sağladığı söylenirdi. Roma gladyatörleri kaslarına soğan sürdüğünde sağlaştığını inanırlardı. Orta çağlarda ev kirası ödemek ve hediye vermek için de soğan kullanılırdı. Doktorlar reçete yazarken soğandan faydalanırlardı. Ereksiyon sağlamada, öksürük, baş ağrısı, yılan sokmasında soğanı yazarlardı. Eski Mısırlılar soğan kesildiğinde görülen konsantrik yapının yaşamı sembolize ettiğine inanırlardı (Upadhyay, 2016).

2.4.2. Soğan fiziksel özellikleri

Soğan bitkisinin sahip olduğu köklerin her biri bitkiye ayrı ayrı bağlanmışlardır. Bu şekilde saçak kök halini aldığı görülür. Kökler ince uzun beyaz renktedir. Yaklaşık olarak 20-25 cm içte yetişir (Milli Eğitim Bakanlığı, 2008).

Yassı ve kalın bir gövdeye sahiptir ve içe gömülü olduğundan dışardan görmek oldukça zordur. Yaklaşık olarak 10 ya da 15 cm uzanır. Gövde yuvarlak kesitlidir (Milli Eğitim Bakanlığı, 2008).

Yaprak ve başı en kuvvetli gelişen organıdır. Boşluklu yapıda geniş ve beyaz yapıdadırlar. Çevresel şartlara uygun olarak 20-60 cm kadar uzayabilirler. Yaprak rengi açık yeşilden koyu yeşile kadar pek çok renk alır. Yapraklar yeterli uzunluğa eriştiklerinde bitki için depo görevi görmeye başlarlar. Depo görevi görmelerinin yanı sıra kalınlaştığı için bitkiyi koruma görevi de üstlenirler. Soğan başları genel olarak armut, yumru, silindir ve koni şeklini alır. Başları mor, sarı, kahverengi renklerini alırlar. İç kısımları oldukça etli beyaz ve suludur (Milli Eğitim Bakanlığı, 2008).

Normal olgunluğa eriştikten sonra tam olarak çiçek açmaları yaklaşık olarak iki ya da üç yılı bulur. Sahip oldukları yumru daha fazla geliştiğinde daha etli ve yumrulu bir hale gelerek sofralarımızda kullandığımız soğan haline gelirler. Sahip olduğu çiçek sapları üzerinde herhangi bir çiçek bulundurmaz. Çiçek tablası zarla kaplıdır bu zar yarıldığında 2-3 cm uzunluğunda çiçekler çıkar (Milli Eğitim Bakanlığı, 2008).

Tohumları siyah ve buruşuktur. 0 °C'de tohum çimlenir ve bitki optimal olarak 27 °C'de daha fazla büyür. İki ya da üç yıl çimlenme özelliklerini taşırlar. Tohumlar sahip oldukları fizyolojiyi dört ya da altı hafta daha korumayı sürdürebilirler (Milli Eğitim Bakanlığı, 2008).

2.4.3. Soğan kimyasal özellikleri

Soğanın kimyasal bileşenleri arasında karbonhidrat, yağ, organik asitler, vitamin (a,b,c), allin türevleri bulunmaktadır. Soğanın bu kadar yakıcı olmasının nedeni bünyesinde bulundurduğu uçucu bir yağ olan allilpropil dikükürttür. Soğan fazlaca oranda kükürt içeren ve kükürt içermeyen bileşikler bolca bulundurur. Soğanın organik kükürtlü bileşiklerin başlıcaları thiosülfinatla, kepaenler, S-oksitler, S,S-dioksitler, mono- di -trisülfitler ile sadece sistein sülfoksitlerle (S-propyl-L-sistein sülfoksit gibi) kükürtlü bileşikler oluştururlar. Soğan kıyıldığında ya da doğrandığında açığa çıkan sistein sülfoksit sahip olduğu allinazın etkisiyle sülfenik asitler oluşur ve sahip olduğu propilsülfenik asitin yeniden düzenlenmesiyle soğanın gözyaşartıcı etkisi ortaya çıkmış olur. Soğan bitkisinde bazen ağır metaller radyoaktif kalıntılar bulunabilir (Dinçoğlu ve Temamoğulları, 2010).

2.4.4. Soğan biyolojik özellikleri

Soğan önemli antioksidanlardan olan flavonoidler, antosiyaninler, kuersetin ayrıca alkil/alkalen sistein sülfoksitler bakımından zengin bir bitkidir. Soğan antikanserojen, fibronelitik, antifungal ve antibakteriyel etkisi olduğu bilinmektedir. Soğan ve elma neredeyse aynı oranda kuersetin içermektedir fakat soğandaki kuersetin biyoyararlanım oranı daha yüksektir. Kuersetin güçlü bir antioksidandır antikanserojen, antifungal, antiallergenik etkisi yüksektir. Meyve, sebze, çay, fındık, bademde bol miktarda bulunmaktadır (Yılmaz, 2010).

Soğan immun sistemi güçlendirir. Bunun yanı sıra kanserojenleri azaltır. Tümör hücrelerini azaltır ve kolesterol seviyesini dengelemeye de yardımcı olur. İçeriğinde sahip olduğu önemli minerallerden biri olan selenyum kalp-damar sağlığını korumada son derece başarılı bir mineraldir. Soğanın sahip olduğu flavonoidler serbest radikalleri yakalama özelliklerine sahiptirler (Çoşkun, 2005).

Soğanda bol olarak bulunan flavonoid ve antioksidanlar obezite, kalp, diyabet gibi rahatsızlıkların minimuma indirilmesinde yüksek oranda yardımcı olurlar (Yünlü ve Kır, 2016).

2.4.5. Soğan Antimikrobiyal Özellikleri

Soğan, flavonoidler ve alkalen olmak üzere 2 grup altında toplanabilmektedir. Flavonoidler kendi aralarında ise antosiyaninler ve flavonoller olmak üzere ikiye ayrılırlar. Flavonollerin sahip olduğu antimikrobiyal özelliklerin ise kinonlardaki gibi bakteri hücre duvarındaki proteinlerle etkileşime girmeleri olduğu gösterilmiştir. Soğanın en yaygın flavonoli kuersetindir. Bunun haricinde 16 adet daha sahip olduğu flavonol tespit edilmiştir. Bünyesinde yer alan alkil/alkalen ve saponinler, proteinler soğana antimikrobiyal özellik kazandırmasının yanı sıra antifungal etkisini de arttırmaktadır (İrkin ve Korukoğlu, 2007).

Soğan suyu ya da su özütü yapılan bazı çalışmalarda *E.coli*, *Serratia marcescens* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi bakterilerde gelişimi engellemektedir. Soğan özütü ile yapılan çalışmalarda ise *Staphylococcus aureus*'un artışını engellemektedir. Soğandan elde edilen özütün ağız içindeki patojenlere karşı da etkili olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca soğanın sahip olduğu güçlü etkilerden dolayı da iyi bir gıda koruyucusu olduğu bilinmekte ve sıkça kullanılmaktadır (Dinçoğlu ve Temamoğulları, 2010).

2.4.6. Soğan deneysel olarak kullanım alanları

Farmakolojik açıdan soğan bitkisi özütü tedavi amaçlı sıklıkla kullanılmaktadır. Soğanın eterli özütü oral yolla alındığında trombosit oranında azalma sağlayarak anti-alerjik etki göstermektedir. Yapılan diğer çalışmalarda sahip olduğu antioksidan özellikten dolayı kalp-damar hastalıklarının azaltma yönünde başarılıdır. Astım önleyici özelliğinin yanı sıra şeker hastalarında üre, ürik asit, kreatinini azaltma konusunda başarılı sonuçlara sahiptir. Fibroblastları engeller ve bu sayede deride oluşan yaraların önüne geçmiş olur. Kan glikozunu düşürür. Oral yolla alındığında lipid ve kolesterolü dengeler (Dinçoğlu ve Temamoğulları, 2010).

Tıbbi ve aromatik bitkiler sınıfına da giren soğan gıda ve baharat alanında, uçucu yağ olarak ise tıbbi alanda sıkça kullanılmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

3. MATERYAL VE METOD

Deneyler boyunca kullanılan cihazlar, kimyasallar ve sarf malzemeler Tablo 1, Tablo 2 ve Tablo 3’de listelenmiştir.

Tablo 1: Deneylerde kullanılan cihazlar ve yararlanım amaçları

Adı / Modeli	Deneylerdeki yararlanım amacı
Air flow kabin (Robert- Bosch- Strasse 1)	Hücre kültürü için steril bir ortam sağlamak.
Su Banyosu (Mikrotest)	Hücreleri ve kimyasalları 37 °C’de çözmek için .
Co ₂ inkübatör (Thermo Scientific Forma 371)	Hücrelerin steril inkübasyonunu sağlamak.
Derin Dondurucu -80 ° C (Thermo Scientific Forma 88000 Series)	Hücrelerin saklanması.
Spektrofotometre (Thermo Scientific Multiskan Go)	96 kuyucuğun okunması.
Mikroskop (Leica DM500)	Hücre kültüründen sonra hücrelerin sayılması.
Santrifüj (Thermo Scientific SL 16)	Deneylerde çöktürme ve homojen karışımlar oluşturmak.
Distile su cihazı (Thermo Scientific Smart2pure)	Ekstreler için alkolü inceltmede.
Derin Dondurucu -20 ° C(Arçelik 1050 T)	Kimyasalların dondurulup saklanması.
Buzdolabı +4 °C (Vestel EKO SC300)	Ekstrelerin saklanması.
Vortex (VWR International Mixers)	Hücrelerin ve ekstrelerin karışması.
Etüv (Nüve EN 500)	Ekstrelerin istenilen sıcaklığa ulaşması.
Çalkalayıcı İnkübatör (Stuart orbital incubator SI500)	Bakteriler 24 saat inkübasyonu.
Ultrasonic parçalayıcı (Stuart heat-stir SD162)	Soğanın 90 ° C’de kaynayabilmesi.
Alkol Uçurucu (Inovia MD 200)	Ekstrelerde alkolün uçabilmesi.
Hassas Terazi (Radwag S220/C/2)	Ekstreleri ölçmek.
Trinokuler Mikroskop (Soif MC50)	Hücrelerin görüntülenmesi ve takibi.
Otoklav (Nüve OT 100V)	Sterilizasyon.

Tablo 2: DeneYlerde kullanılan kimyasallar ve yararlanım amaçları

Adı / Katalog Bilgisi	DeneYlerdeki yararlanım amacı
MCF-7 hücre hattı / American Type Culture Collection, ATCC-Yeditepe Üniversitesi Doç.Dr Soner Doğan hediyesidir.	DeneYlerde kullanılan meme kanseri hücre hattı.
Propolis / Malatya yöresinden Nisan 2017 balzam şeklinde	Hücrelerde ve bakterilerde etkisi araştırılan ajan.
Soğan / Ümraniye’de herhangi bir pazardan alınmış	Hücrelerde ve bakterilerde etkisi araştırılan ajan.
DMEM Ortamı / Sigma D6429	Mcf-7 hücrelerini büyütme ortamı.
Trypsin-EDTA / Gibco 1815213	Hücrelerin flasktan kaldırılması.
Pen strep / Gibco 18229773	Hücre ortamı bileşeni.
Thiazolyl Blue / ChemCruz J1816	MTT testinde hücre çoğalmasının ölçümü.
Fetal Bovine Serum (FBS) / Capricorn CP16-1299	Hücre ortamı bileşeni.
LB Borth (Miller) / Sigma L2542	Bakterilerin besin ve çoğalma ortamı.
Trypan Blue Stain / Gibco 1384928	Hücreleri sayarken canlı ve ölüleri ölçmek.
Methanol / Merck 603-001-00-X	Soğan ve Propolis ekstraktını çözmede.
Ethanol / Emsure 64-17-5	Soğan ve Propolis ekstraktını çözmede.
Isopropyl Alcohol / J.T.Baker B24B43	Hücreleri plaktan çözmek.
HCl / Emsure	Soğan hücrelerini parçalamak.
Dimethyl Sulfoxide (DMSO) / Biomatik 3K31569	Hücreleri plaktan çözmek.
NaCl / Emsure 7647-14-5	Hücre yıkanmasında (PBS) ortam bileşeni.
KCl / Rokim 7447-40-7	Hücre yıkanmasında (PBS) ortam bileşeni.
Na ₂ HPO ₄ / Molychem 26040	Hücre yıkanmasında (PBS) ortam bileşeni.
KH ₂ PO ₄ / Emsure 7778-77-0	Hücre yıkanmasında (PBS) ortam bileşeni.

Tablo 3: Deneylerde kullanılan sarf malzemeler ve yararlanım amaçları

96 Well Cell Culture Plate / Nest 701001	Bakteri ve hücreleri kültüre etme ortamı.
15 ml Centrifuge Tube / Nest 601002	Ekstrakt , bakteri ve hücre hazırlama ortam ekipmanı.
50 ml Centrifuge Tube /Nest 602002	Hücre kültüründe hücre hazırlama ortam ekipmanı.
Serolojik Pipet / Capp 160823B	Hücre kültüründe ekim ve çoğaltma.
25 cm ² flask / TPP 20160473	Hücre kültürü ekim flaskı.
Syringe Filter / AISIMO 170227SF33CA22S	PBS filtrelemek.
Rondo / Fakir model	Soğanı parçalamak.
Rende / Herhangi bir marketten alınan	Propolisi rendelemek.
Mikropipetler / Eppendorf	Konsantrasyonları ve ml ayarlamak için
Cam malzemeler / Isolab	Ekstraktları hazırlamak.
Parafilm / Bernis	Koruma amaçlı.
Steril Pipet Ucu 10 µl / Nest 2016001	Oran ayarlamak.
Steril Pipet Ucu 1000 µl / Expell 4130135C	Oran ayarlamak.
Steril Pipet Ucu 200 µl / Axygen 120405-212	Oran ayarlamak.
Steril enjektör / Beybi	Distile suda az miktarları ayarlamak.
Steril eldiven (M) / Tentynit R403 242LN375	Kontaminasyon riskini azaltmak.
Lamel / Isolab DC.75.1.7	Hücre kültüründe hücre saymak için.
Neubauer lamı / Isolab	Hücre sayımında.
Cryotube / Thomas Scientific 5000-0012	-80 ⁰ C' de hücreleri saklamak.
Alüminyum folyo / Herhangi bir marketten	DMSO kaplamak ve MTT son aşama.
Eppendorf tube / Granier Bio-One 616202	Solüsyon hazırlamada.
Pcr tube / Nest 401001	Metanolun uçmasını engellemek.
Sealing / BBI T329-2S	Bakterilerin platede üzerini kapatmak.
Multichannel pipet / Isolab LA 11942	Pleytte eşit oranı ayarlamak.

3.2. METOD

3.2.1. Propolis, Soğan, Hücre Kültürü Kimyasallarının Hazırlanması

Propolisin Metanollü Ekstraktının Hazırlanışı: Türkiye’de Malatya Doğanşehir yöresinden Nisan 2017’de toplanan balzam şeklindeki propolis örnekleri rendelenip küçük hale getirildi. Elde edilen propolis örneğinden 60 gr tartılıp üzerine %99 olan metanol oranını %95’e düşürmek için 286 ml metanol ve 13,57 ml distile su ile karıştırıldı. 300 ml ve %95’lik metanol propolis çözeltisi elde edilmiştir. Örnekler 2 ayrı behere ayrılıp üzeri parafilmlelenmiştir. Hava akışını sağlayabilmek için parafilm üzerine ufak delikler açılmıştır. Etüvde yaklaşık olarak 5 gün boyunca günde iki kere karıştırılmıştır. Bütün ekstrakt süzme kağıdıyla süzildükten sonra tüplere aktararak alkol uçurucu yardımıyla alkolü uçurulmuştur. Bu şekilde hazırlanan stok propolis ekstresinden seyretme yoluyla 0.45 m’lik filtreden geçilerek hücre kültürüne hazır hale getirilmiştir. Çalışmalarda 1/5 (0.2), 1/10 (0.1), 1/20 (0.05) mg/ml konsantrasyonları kullanılırken 1/40, 1/80, 1/160 şeklinde farklı konsantrasyonlarda daha sonra kullanılmak için +4 °C’de saklanmıştır (w/v).

Propolisin Etanollü Ekstraktlarının Hazırlanışı: Türkiye’de Malatya Doğanşehir yöresinden Nisan 2017’de toplanan balzam şeklindeki propolis örnekleri rendelenip küçük hale getirildi. Elde edilen propolis örneğinden 50 ml etanollü ekstrakt elde etmek için 1 gr balzam şeklindeki propolis ve %99.9 etanol karıştırılmıştır. Örnek 3 gün etüvde bekletilip günde 2 kere karıştırıldıktan sonra fazla alkolü uçurulup 0.45 m’lik filtreden geçirilmiştir. Etanollü ekstrakt seyretme yoluyla 1/50 (0.02) ve 1/250 (0.004) mg/ml şeklinde iki ayrı konsantrasyon elde edilmiştir (w/v).

Soğanın Metanollü Ekstraktının Hazırlanışı: Türkiye’de İstanbul Ümraniye ilçesinde herhangi bir pazardan alınan 3 adet soğan soyulduktan sonra rondodan geçirilerek kurutma kağıdının üzerine ince bir tabaka şeklinde yayılarak 2 gün süreyle kurutuldu. Kuru ağırlık hassas terazide tartıldığında yaklaşık olarak 35.25 gr olarak ölçülmüştür. %99.9 olan metanolün içine kuru olarak 5 gr tartılan soğanın içine 140 ml distile su ve 260 ml metanol eklendi. %65’lik metanol elde edilmiş oldu. Soğanın daha iyi parçalanması için karışımın içine 18,18 ml HCL eklendi. Ertesi gün soğan ekstraktı 30 dk ultrasonic parçalayıcı da bekletildi. Tekrar 90 °C ve 400 rpm’de 2 saat muamele edildi. 0.45 m’lik filtreye süzüldü. Metanollü ekstrakt seyretme yöntemiyle değişik konsantrasyonlarda elde edilmiştir. Çalışmalarda 1/100 (0.01), 1/500 (0.002) mg/ml

konsantrasyonları kullanılırken hazırlanan diğer konsantrasyonlar 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600 ise daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır (w/v).

Soğanın Etanollü Ekstraktının Hazırlanışı: Türkiye'de İstanbul Ümraniye ilçesinde herhangi bir pazardan alınan 3 adet soğan soyulduktan sonra rondodan geçirilerek kurutma kağıdının üzerine ince bir tabaka şeklinde yayılarak 2 gün süreyle kurutuldu. Kuru ağırlık hassas terazide tartıldığında yaklaşık olarak 35.25 gr olarak ölçülmüştür. 50 ml çözelti hazırlamak için 1 gr soğan hassas terazide tartıldı. %99.9 olan etanol %65'e düşürüldü. 40 ml etanol kurutulmuş soğanların üzerine eklendi. Soğan ekstresi 3 gün 37°C'de bekletildi. 3 gün sonunda soğan ekstresi süzme kağıdıyla süzüldü. Ertesi gün soğan ekstraktı 30 dk ultrasonic parçalayıcı da bekletildi. Tekrar 90°C ve 400 rpm'de 2 saat muamele edildi. 0.45 µm'lik filtreye süzüldü. Etanollü ekstrakt seyretme yöntemiyle 1/50 (0.02), 1/250 (0.004) mg/ml iki ayrı konsantrasyon elde edildi (w/v).

%70'lik Etanol eldesi: %99.9'luk etanolden 70 ml alındı. Üzerine 30 ml distile su ilave edildi ve son hacim 100 ml tamamlanarak sterilizasyonu sağlama da kullanmak için %70'lik etanol çözeltisi elde edildi.

PBS (Phosphate Buffered Saline) pH 7.4 : 500 ml PBS elde edebilmek için 4 gr NaCl, 0.1 gr KCl, 0.72 gr Na₂HPO₄, 0.12 gr KH₂PO₄ tartılarak üzerine 400 ml distile su eklenmiştir. Çözeltiyi 0.22 µm filtreden geçirdikten sonra parafilmleyerek +4 °C'de falcon da ağzı parafilmlelenerek muhafaza edilmiştir.

Dondurma Medium Hazırlanması : Dondurma mediumu hazırlanırken ortam %10 DMSO ve %90 FBS içermelidir. Çalışmada Fetal Bovine Serum -20 °C'den alınıp su banyosunda 37 °C'ye getirilmiştir. Son hacim 50 ml için 5 ml DMSO ve 45 ml FBS kullanılmıştır. +4 derecede falconun ağzı parafilmlelenerek bekletilmiştir.

MTT Stok Solüsyonu hazırlanışı : MTT stok solüsyonu +4 °C'den alınmıştır. MTT stok solüsyonu 5 mg/ml olmalıdır. Yaklaşık olarak 30 gr Thiazolyl Blue hassas terazide ölçülmüştür. 30 gr Thiazolyl Blue eklenen 15 ml falcona 10 ml DMSO eklenmiştir. Falcon alüminyum folyo ile kapatılıp falconun ağzı ise parafilmlelenip -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Büyütme Medyumu Hazırlanması : Fetal Bovine Serum -20°C 'den alınarak su banyosunda 37°C 'ye getirilmiştir. Pen strep -20°C 'den su banyosunda 37°C 'ye getirilmiştir. Hazırlanan %70'lik etanolle kabin ve -20°C 'den çıkartılan kimyasallar steril edilmiştir. Son hacim 50 ml olacak şekilde medyum hazırlamak için 44.5 ml DMEM, %10 final konsantrasyonlu FBS için 5ml FBS ve %1 final konsantrasyonlu Pen strep için 0.5 ml Pen strep, 50 ml'lik falcona eklenmiştir. Falconun ağzı parafilmlelenerek $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.2.2. Hücre Kültürü

Çalışmaların hepsi hücre kültürü kabini (air flow kabin)'de kabin her açılıp kapandığında çalışma yapılmadan ve yapıldıktan sonra %70'lik etil alkolle silinmiştir. Kabine girerken ve çıkarken yapılan çalışmalarda kabine girilip çıkıldığında dahi eldiven değiştirilmiş ve eldivenli ellere %70'lik alkol sıkılmıştır. Kabine giren ve çıkan pipetler, pipet uçları, ependorf tüpler, 15 ml ve 50 ml falconlar, serolojik pipetler, 25 cm^2 'lik flaskların hepsi otoklavlanmış ve kabinde ise girip çıkarken %70'lik etanolle steril edilmiştir. Her çalışma tamamlandığında hücre kültürü kabini ve odası UV ışıkla 1 saat boyunca steril edilmiştir.

3.2.2.1. Mcf-7 Hücre Hattının temini ve çoğaltılması

Yeditepe Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Bölümü Doç.Dr. Soner DOĞAN hediyesidir. Hücre hattı American Type Culture Collection, ATCC'den temin edilmiştir. Çalışmalarda Sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Hücrelerde büyütme ortamı olarak % FBS, %1 Pen-Strep ve DMEM ortamı ve 37°C CO_2 inkübatör kullanılmıştır.

3.2.2.2. Hücrelerin çoğaltılması, pasajlanması, dondurulması

-80°C 'den cryotube ile çıkarılan hücreler Yeditepe Üniversitesin'den alınıp tekrar -80°C 'de 1 saat içinde üniversitemize ulaştırıldı. Hücreler cryo tüple beraber su banyosuna konarak 37°C 'de çözünmesi sağlandı. Hücre kültürü kabini %70'lik etanolle steril edildikten sonra hücrede alkollenip kabine alındı. 75 μl şeklinde iki ayrı 25 cm^2 flask içine 3 ml hazır DMEM eklenip üzerine al ver yapılarak hücre hattı cryo tüpden flaska aktarıldı. 2 ya da 3 günde bir serolojik pipet yardımıyla üst faz atılır ve aynı

flaska yeni DMEM eklenildi. -80'den çıkan ilk hücrelerin kendine gelmesi yaklaşık olarak 9 günü aldı. Flask yüzeyi %95 oranına ulaştığında hücre flasktan kaldırıldı ve pasajlandı. Yaklaşık 4 ya da 5 kere pasajlanıp stok yapıldıktan sonra cryo tüplere aktarılarak -80 °C'de bir sonraki çalışmalar için saklandı.

Deney Uygulanış Basamakları:

1. Flaskın içerisindeki ortam serolojik pipet yardımıyla atıldı.
2. 37 °C su banyosunda çözünen Tripsin 2 ml şeklinde flaska ilave edildi.
3. Flask CO₂ inkübatöre konuldu ve 5 dk beklenildi.
4. Süre dolduktan sonra tripsin serolojik pipet yardımıyla al ver yapılarak köpürtmeden yıkandı.
5. Falcon tüpe 2 ml DMEM eklenildi.
6. Tripsinle muamele edilen sıvı falconun üzerine eklenildi.
7. 1300 rpm'de 3 dk boyunca santrifüj edildi.
8. Falcondaki üst faz altında DMEM kalmayacak bir şekilde atıldı.
9. Üzerine tekrar 2 ml DMEM eklenildi.
10. Yeni flaska 3 ml DMEM eklenildi.
11. Falconda kalan 2 ml DMEM'li sıvı al ver yapıldı.
12. 500 µl hücre DMEM karışımı yeni flastaki DMEM'e eklenir. 37 °C' de inkübe edilmeye devam edildi.
13. Hücreler sayılabilir pasajlandı platelere ekildi.
14. Hücreleri dondurmak için +4 °C' de muhafaza ettiğimiz dondurma mediumundan dondurmak istediğimiz kadar eklenildi.
15. 5 dk +4 °C' de, 5 dk -20 °C' de bekletildi. Daha sonra -80 °C' ye kaldırıldı.

3.2.2.3. Hücrelerin çözündürülmesi

-80 °C'den çıkarılan hücreler deney tekrarı ya da devamı için çözündürüldü.

Deneyin Uygulanış Basamakları:

1. -80 ° C'den cryo tüp ile çıkartılan hücreler hızlı bir şekilde 37 °C'de su banyosunda çözündürüldü.
2. 25 cm² flask içine 3 ml DMEM eklenildi.
3. Çözülen cryo tüp içindeki hücre hattı al ver yapılarak 1 ml yeni flask üzerine aktarıldı.
4. 37 °C'lik CO₂ inkübatöre alındı.

3.2.2.4. Neubauer lamı yardımıyla hücrelerin sayılması

Hücrelerin yapılan tüm deneyler için hücreler sayıldı. Boş bir plate yardımıyla 10 µl Tripan mavisi ve 10 µl seyreltilmiş hücre üzerine ilave edilir ve al ver yapıldı. Neubauer lamının ortasına lamel yerleştirilir ve boşluktan karışım bırakıldı. Boyanan hücreler mavi canlı hücreler ise şeffaf şekilde görünürler. Şeffaf hücreler sayıldı.

3.2.2.5. Hücrelerin hesaplanması

Mikroskopla sayılan hücreler 20.000 ile çarpıldı. Hücreler DMEM ile sayretilti. Sonuç olarak 1:5'e seyreltilmiş hücreler 10⁵ oranına getirildi.

3.3.1. MTT (Canlılık Testi)

Farklı konsantrasyonlarda elde ettiğimiz propolis ve soğan ekstraktlarının Mcf-7 meme kanseri üzerindeki canlılığını belirledik.

Canlı olan hücreler sarı renkli MTT (3- [4,5-dimethylthiazol 2-yl]-2,5- diphenyl tetrazolium bromid) tuzunda süksinat dehidrogenaz enziminin aktif olduğu hücrelerde mora boyanmasıdır (Darzynkiewicz ve ark., 1992).

3.3.1.1. Metanollü Ekstraktlarda MTT (Canlılık Testi)

Deney Uygulanış Basamakları:

1. Hücreler flaskta çoğaltıldıktan sonra tripsin 37 °C'de çözündürüldü.
2. Flaska 2 ml tripsin eklenildi.
3. Flask CO₂ inkübatörde 5 dk bekletildi.
4. Falcona 2 ml DMEM ve 2 ml tripsinli çözelti eklenildi.
5. 1300 rpm'de 3 dk santrifüjlendi.
6. Üst faz çekip atılır ve üzerine 4 ml DMEM konup hücreler vortexlendi.
7. 96'lık boş pleyte 10 µl hücre ve 10 µl tripan mavi eklenildi.
8. Neubauer lamına lamel yerleştirildi ve boşluktan hücre tripan mavisi karışımı eklenildi.
9. 10⁵ oranında hücreler DMEM' le seyreltikten 90 µl olarak pleyte ekildi.
10. 1 gece CO₂ inkübatörde bekletildi.
11. Ependorf tüpler kullanılarak herbirine kontrol grubu propolis, 1/5 (0.2), 1/10 (0.1), 1/20 (0.05) mg/ml ve soğan kontrol grubu 1/100 (0.01), 1/500 (0.002) mg/ml 90 µl DMEM ve 10 µl ana stoktan konulup karışım elde edildi.
12. Ayır bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl metanollü propolis kontrol grubu eklenir al ver yapıldı en son kuyucuktan 10 µl atıldı.
13. Ayır bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl 0.2 mg/ml oranında seyreltilen propolis ekstraktı eklendi al ver yapıldı en son kuyucuktan 10 µl atıldı. 0.1, 0.05 mg/ml konsantrasyonları da aynı şekilde devam edildi.
14. Soğan ekstraktı ayır bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl metanollü soğan kontrol grubu eklendi al ver yapıldı en son kuyucuktan 10 µl atıldı.
15. Ayır bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl seyreltilmiş soğan ekstraktı eklenildi al ver yapılır en son kuyucuktan 10 µl atılır. 0.01, 0.002 mg/ml konsantrasyonları da aynı şekilde devam edildi.
16. İki gün süreyle CO₂ inkübatörde bekletildi.
17. 5 mg/ml şeklinde hazırlanan MTT stok solüsyonundan her kuyucuğa 10 µl eklenildi.

18. 3 saat boyunca pleyt CO₂ inkübatörde bekletildi.
19. Her bir kuyudan hücreye değmeden 80 µl çekilip atıldı.
20. Hücreleri kaldırmak için tekrar son konsantrasyon %50 olacak şekilde kuyucuklara yetecek miktarda %50 isopropil alkol + %50 DMSO çözeltisi hazırlandı.
21. Hazırlanan çözeltiden 100 µl kuyucuklara eklenildi.
22. Pleyt ışık girmeyecek şekilde alüminyum folyo ile sarıldı.
23. 45 dk beklenildi.
24. 570 nm'de spektrofotometrede okutuldu.

3.3.1.2. Etanollü Ekstraktlarda MTT (Canlılık Testi)

Deney Uygulanış Basamakları:

1. Hücreler flaskta çoğaltıldıktan sonra tripsin 37 °C'de çözündürüldü.
2. Flaska 2 ml tripsin eklenildi.
3. Flask CO₂ inkübatörde 5 dk bekletildi.
4. Falcona 2 ml DMEM ve 2 ml tripsinli çözelti eklenildi.
5. 1300 rpm' de 3 dk santrifüjlendi.
6. Üst faz çekip atılır ve üzerine 4 ml DMEM konup hücreler vortexlendi.
7. 96' lık boş pleyte 10 µl hücre ve 10 µl tripan mavi eklenildi.
8. Neubauer lamına lamel yerleştirilir ve boşluktan hücre tripan mavisini karışımı eklenildi.
9. 10⁵ oranında hücreler DMEM' le seyreltildi 90 µl olarak pleyte ekildi.
10. 1 gece CO₂ inkübatörde bekletildi.
11. Ependorf tüpler kullanılarak herbirine kontrol grubu propolis, 0.02, 0.004 mg/ml ve soğan kontrol grubu 0.02, 0.004 mg/ml 90 µl DMEM ve 10 µl ana stoktan konulup karışım elde edildi.
12. Ayrı bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl etanollü propolis kontrol grubu eklendi al ver yapıldı en son kuyucuktan 10 µl atıldı.

13. Ayrı bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl 0.02 mg/ml oranında seyreltilen propolis ekstraktı eklenildi al ver yapıldı en son kuyucuktan 10 µl atıldı. 0.004 mg/ml konsantrasyonu içinde aynı şekilde devam edildi.
14. Soğan ekstraktı ayrı bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl etanollü soğan kontrol grubu eklenildi al ver yapıldı en son kuyucuktan 10 µl atıldı.
15. Ayrı bir pleyte 10 µl DMEM ve üzerine 10 µl seyreltilmiş soğan ekstraktı eklenildi al ver yapıldı en son kuyucuktan 10 µl atıldı. 0.02, 0.004 mg/ml konsantrasyonları da aynı şekilde devam edildi.
16. İki gün süreyle CO₂ inkübatörde bekletildi.
17. 5 mg/ml şeklinde hazırlanan MTT stok solüsyonundan her kuyucuğa 10 µl eklenildi.
18. 3 saat boyunca pleyt CO₂ inkübatörde bekletildi.
19. Her bir kuyudan hücreye değmeden 80 µl çekilip atıldı.
20. Hücreleri kaldırmak için tekrar son konsantrasyon %50 olacak şekilde kuyucuklara yetecek miktarda %50 isopropil alkol + %50 DMSO çözeltisi hazırlandı.
21. Hazırlanan çözeltiden 100 µl kuyucuklara eklenildi.
22. Pleyt ışık girmeyecek şekilde alüminyum folyo ile sarıldı.
23. 45 dk beklenir. 570 nm'de spektrofotometrede okutuldu.

3.3.1.3. Farklı Konsantrasyonlu Metanollü Ekstraklara MTT (Canlılık Testi)

Stok solüsyonunu oranlarken tüplerdeki en yoğun olan ana stoktan yararlanıldı. Son konsantrasyonlar 500 µM, 50 µM, 10 µM, 5 µM, 1µM elde edildi. Soğan ve propolisin metanollü ekstraktlarına 6 tekrarlı bir şekilde uygulandı.

Deney Uygulanış Basamakları:

1. Hücreler flaskta çoğaltıldıktan sonra tripsin 37 °C'de çözündürüldü.
2. Flaska 2 ml tripsin eklenildi.
3. Flask CO₂ inkübatörde 5 dk bekletildi.
4. Falcona 2 ml DMEM ve 2 ml tripsinli çözelti eklenildi.

5. 1300 rpm' de 3 dk santrifüjlendi.
6. Üst faz çekip atıldı ve üzerine 4 ml DMEM konup hücreler vortexlendi.
7. 96' lık boş pleyte 10 µl hücre ve 10 µl tripan mavi eklenildi.
8. Neubauer lamına lamel yerleştirilir ve boşluktan hücre tripan mavisi karışımı eklendi.
9. 10^5 oranında hücreler DMEM' le seyreltildi sonra 90 µl olarak pleyte 6 tekrarlı 6 kuyucuk ekildi.
10. 1 gece CO₂ inkübatörde bekletildi.
11. İlk kuyucuklar kontrol grubu olarak adlandırıldı. 3'er sıraya da 10 µl propolis kontrol ve 10 µl soğan kontrol grupları eklendi.
12. Propolisin 0.2 mg/ml ana stoğundan ependorfa 5 ml konulup üzerine 995 ml DMEM eklenip 500 µM ana stok elde edildi. İkinci bir ependorfa 100 µl ana stoktan alındı 900 µl DMEM eklendi 50 µM stoğu elde edildi. Üçüncü ependorfa ikinci ependorftan 200 µl alındı üzerine 800 µl DMEM eklendi 10 µM ana stok elde edildi. Dördüncü ependorfa üçüncü ependorftan 500 µl alınıp üzerine 500 µl DMEM eklenerek 5 µM stoğu elde edildi. Beşinci ependorfa dördüncü ependorftan 200 µl üzerine 800 µl DMEM eklendi 1 µM stoğu elde edildi.
13. Soğanın 0.01 mg/ml ana stoğundan ependorfa 500 µl üzerine 500 µl DMEM eklendi 500 µM ana stok elde edildi. İkinci bir ependorfa 100 µl ana stoktan alındı 900 µl DMEM eklendi 50 µM stoğu elde edildi. Üçüncü ependorfa ikinci ependorftan 200 µl alındı üzerine 800 µl DMEM eklendi 10 µM ana stok elde edildi. Dördüncü ependorfa üçüncü ependorftan 500 µl alınıp üzerine 500 µl DMEM eklenerek 5 µM stoğu elde edildi. Beşinci ependorfa dördüncü ependorftan 200 µl üzerine 800 µl DMEM eklendi 1 µM stoğu elde edildi.
14. Sırayla kuyucukların üzerine 10 µl elde edilen dozlardan eklendi.
15. İki gün süreyle CO₂ inkübatörde bekletildi.
16. 5 mg/ml şeklinde hazırlanan MTT stok solüsyonundan her kuyucuğa 10 µl eklenildi.

17. 3 saat boyunca pleyt CO₂ inkübatörde bekletildi.
18. Her bir kuyudan hücreye değmeden 80 µl çekilip atıldı.
19. Hücreleri kaldırmak için tekrar son konsantrasyon %50 olacak şekilde kuyucuklara yetecek miktarda %50 isopropil alkol + %50 DMSO çözeltisi hazırlandı.
20. Hazırlanan çözeltiden 100 µl kuyucuklara eklenildi.
21. Pleyt ışık girmeyecek şekilde alüminyum folyo ile sarılır. 45 dk beklenildi.
22. 45 dk beklenildi.
23. 570 nm’de spektrofotometrede okutuldu.

3.3.2. Antimikrobiyal testlerde kullanılan bakterilerin eldesi

Antimikrobiyal deneyde kullanılan bakterilerin tamamı İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesin’de yatan hastalardan izole edilmiş klinik suşlardır. *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* kullanılmıştır. Metanollü, etanollü ve LB kullanılarak 3 ayrı 9 tekrarlı deney yapılmıştır. Güvenlik kabini ve malzemeler her giriş ve çıkışta alkolle dezenfekte edildi.

3.3.2.1. Metanollü Ekstraktlarda Antimikrobiyal Deneyi

Çalışmalarda Sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. 96 ‘U’ şeklindeki well pleytlere öncelikle soğan ve propolisin çözücü alkolü 10 µl ilave edilip ilk kuyucuğa 10 µl propolis veya soğan ekstraktının konsantrasyonundan ilave edildi. Seri olarak her kuyucukta 10 µl üçer defa karıştırılıp diğer kuyucuğa geçirildi. Onikinci kuyucukta 10 µl atıldı.

Deney Uygulanış Basamakları:

1. Boş bir pleyte öncelikle 100 µl LB eklendi daha sonra sırayla bakteriler 100 µl eklendi. Spektrofotometrede ilk OD ölçümleri yapıldı.
2. Boş kuyucuğun değeri 0,05 kabul edildi.
3. LB blank olarak adlandırıldı. Ölçülen blank değeri bakterinin değerinden çıkartıldı. Çıkan sonuç elimizde fazla oranda olmasını istediğimiz bakterilerimiz için oranımızı 10 ml olarak belirlendi. İsteddiğimiz oran ve boş OD değeri ile çarpılıp bakterinin OD değerine bölündü. Çıkan sonuç eklenecek bakteri olarak kabul edildi ve kalan 10 ml LB' ye tamamlandı.
4. Bütün bakteriler 10 ml'ye LB ile seyreltildi.
5. -80 °C'den çıkarılan bakteriler 37 °C'ye getirildi.
6. 5 ayrı falcona 10 ml LB ve 100 µl bakteri eklendi.
7. Bir gece boyunca çalkalayıcı inkübatörde 37 °C'de bekletildi.
8. Metanolün uçması nedeniyle pcr tüplerine her oran için 12 kuyucukta kontroller ve propolis 0.2, 0.1, 0.05 mg/ml için ve soğanda kontrol 0.01, 0.002 mg/ml için seyreltmeler yapıldı. 100 µl kontrol grubu ve 100 µl propolis 0.2, 0.1, 0.05 mg/ml ve soğan kontrol grubu 0.01, 0.002 mg/ml tek tek 12 kuyucuk için seyreltildi. Yaklaşık olarak 87 pcr tüpü kullanıldı. A grubu propolis kontrol, B grubu propolis 0.2 mg/ml, C grubu propolis 0.1 mg/ml, D grubu propolis 0.05 mg/ml, E grubu soğan kontrol, F grubu soğan 0.01 mg/ml, G grubu 0.002 mg/ml ve H grubu sadece 90 µl bakteriden oluşmaktadır. En yoğun konsantrasyon 1. Kuyucuktur.
9. Bütün kuyucuklara 10 µl seyreltilen ekstraktardan konuldu.
10. Bütün kuyucukların üzerine seyreltilen bakterilerden 90 µl konuldu.
11. Pleytlerin hepsi 10 sn shake yapıldı.
12. Spektrofotometrede 600 nm'de ölçülerek ilk ölçümler kayıt edildi.
13. Pleytlerin tamamı sealing ile kaplandı.
14. Kaplanan pleytler 24 saat çalkalayıcı inkübatörde bekletildi.
15. Ertesi gün 600 nm' de ölçülerek sonuçlar değerlendirildi.

3.3.2.2. Metanollü Ekstraktlarda LB ile Seyreltilen Bakterilerin Antimikrobiyal Deneyi

Deney Uygulanış Basamakları:

1. Boş bir pleyte öncelikle 100 µl LB eklendi daha sonra sırayla bakteriler 100 µl eklendi ve spektrofotometrede ölçüldü.
2. Boş kuyucuğun değeri 0,05 kabul edildi.
3. LB blank olarak adlandırıldı. Ölçülen blank değeri bakterinin değerinden çıkartıldı. Çıkan sonuç elimizde fazla oranda olmasını istediğimiz bakterilerimiz için oranımızı 10 ml olarak belirlendi. İsteddiğimiz oran ve boş OD değeri ile çarpılıp bakterinin OD değerine bölündü. Çıkan sonuç eklenecek bakteri olarak kabul edildi ve kalan 10 ml LB'ye tamamlandı.
4. Bütün bakteriler 10 ml' ye LB ile seyreltildi.
5. -80 °C' den çıkarılan bakteriler 37 °C' ye getirildi.
6. 5 ayrı falcona 10 ml LB ve 100 µl bakteri eklendi.
7. Bir gece boyunca çalkalayıcı inkübatörde 37 °C' de bekletildi.
8. Propolis ekstraktı LB ile seyreltildiğinde reaksiyona girdiğinden dolayı 0.001 ve 0.01 mg/ml olarak seyreltilip çökeltmenin önüne geçildi. Soğan ekstraktı 0.002 ve 0.01 olarak LB ile seyreltildi. Soğan ve propolisin kontrol grupları da 1 ml kontrol ve 9 ml LB olacak şekilde seyreltildi. A grubuna 90 µl bakteri eklendi. B grubuna propolis kontrol, C grubuna propolis 0.001, D grubuna propolis 0.01, E grubuna soğan kontrol, F grubuna soğan 0.02, G grubuna 0.01 mg/ml soğan konulmuştur. En yoğun konsantrasyon 1 numaradadır.
9. Bütün kuyucuklara öncelikle seyreltilen kontrol grupları ardından 10 µl hazırlanan konsantrasyonlar eklendi.
10. Bütün kuyucukların üzerine seyreltilen bakterilerden 90 µl konuldu.
11. Pleytlerin hepsi 10 sn shake yapıldı.
12. Spektrofotometrede 600 nm' de ölçülerek ilk ölçümler kayıt edildi.
13. Pleytlerin tamamını sealing ile kaplandı.

14. Kaplanan pleytler 24 saat çalkalayıcı inkübatörde bekletildi.
15. Ertesi gün 600 nm' de ölçülerek sonuçlar değerlendirildi.

3.3.2.3. Etanollü Ekstraktlarda Bakterilerin Antimikrobiyal Deneyi

Deney Uygulanış Basamakları:

1. Boş bir pleyte öncelikle 100 µl LB eklendi daha sonra sırayla bakteriler 100 µl eklendi ve spektrofotometrede ölçüldü.
2. Boş kuyucuğun değeri 0,05 kabul edildi.
3. LB blank olarak adlandırıldı. Ölçülen blank değeri bakterinin değerinden çıkartıldı. Çıkan sonuç elimizde fazla oranda olmasını istediğimiz bakterilerimiz için oranımızı 10 ml olarak belirlendi. İsteddiğimiz oran ve boş OD değeri ile çarpılıp bakterinin OD değerine bölündü. Çıkan sonuç eklenecek bakteri olarak kabul edildi ve kalan 10 ml LB' ye tamamlandı.
4. Bütün bakteriler 10 ml' ye LB ile seyreltildi.
5. -80 °C' den çıkarılan bakteriler 37 °C'ye getirildi.
6. 5 ayrı falcona 10 ml LB ve 100 µl bakteri eklendi.
7. Bir gece boyunca çalkalayıcı inkübatörde 37 °C' de bekletildi.
8. Propolis ekstraktı etanolle 0.02 ve 0.004 mg/ml oranında seyreltildi. Soğan ekstraktı ise 0.02 ve 0.004 oranında seyreltildi. Pleytin en son kuyucuklarına sadece 90 µl bakteri eklendi. A grubuna 90 µl bakteri eklendi. B grubuna propolis kontrol, C grubuna propolis 0.02, D grubuna propolis 0.004, E grubuna soğan kontrol, F grubuna soğan 0.02, G grubuna 0.004 mg/ml soğan konuldu. En yoğun konsantrasyon 1. kuyucuktadır.
9. Bütün kuyucuklara öncelikle seyreltilen kontrol grupları ardından 10 µl hazırlanan konsantrasyonlar eklendi.
10. Bütün kuyucukların üzerine seyreltilen bakterilerden 90 µl konuldu.
11. Pleytlerin hepsi 10 sn shake yapıldı.
12. Spektrofotometrede 600 nm' de ölçülerek ilk ölçümler kayıt edildi.
13. Pleytlerin tamamını sealing ile kaplandı.
14. Kaplanan pleytler 24 saat çalkalayıcı inkübatörde bekletildi.

15. Ertesi gün 600 nm’de ölçülerek sonuçlar değerlendirildi.

3.4. İstatiksel analiz yöntemi

Oluşturulan veriler İstatistik Paketi (SPSS) sürüm 20.0 ile analiz edilmiştir. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Veriler Varyans (tek yönlü ANOVA) kullanılarak analiz edilmiş ve Post-hoc Tukey testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık değeri $p < 0.05$ kabul edilmiştir.

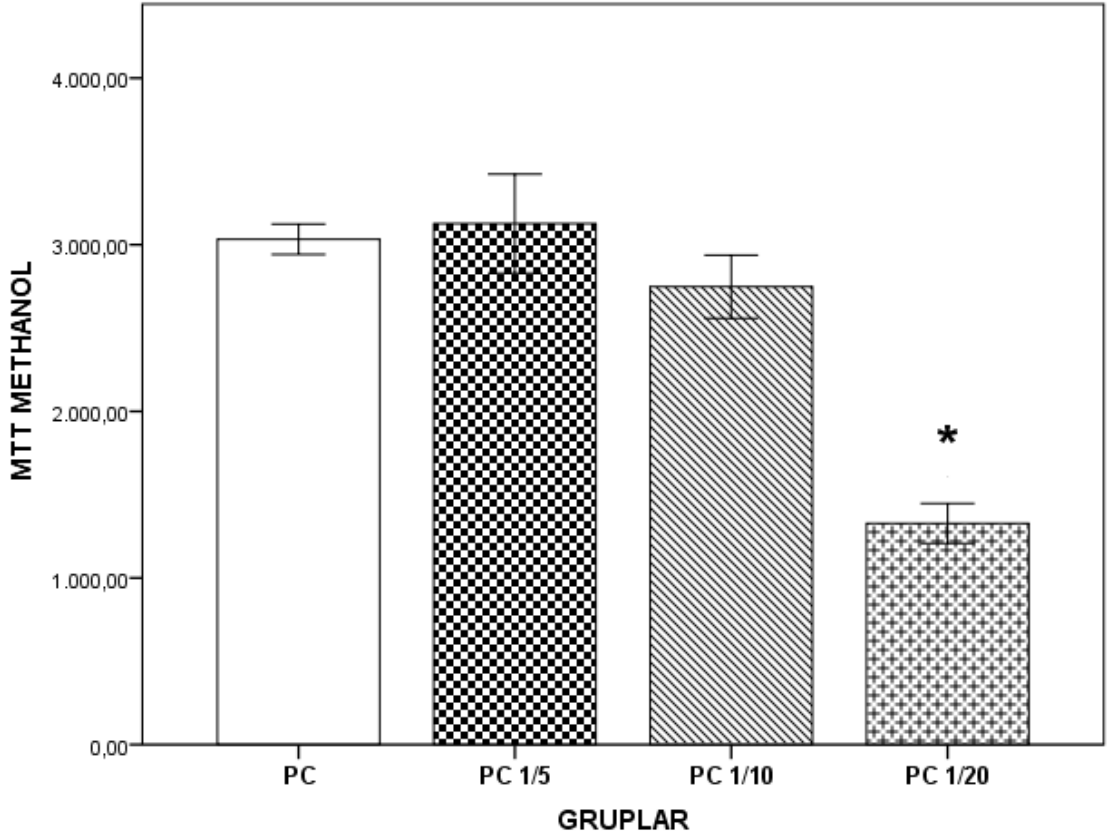


4. BULGULAR

4.1. MTT Testi Kullanılarak Propolis ve Soğan Ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattındaki canlılık sonuçları

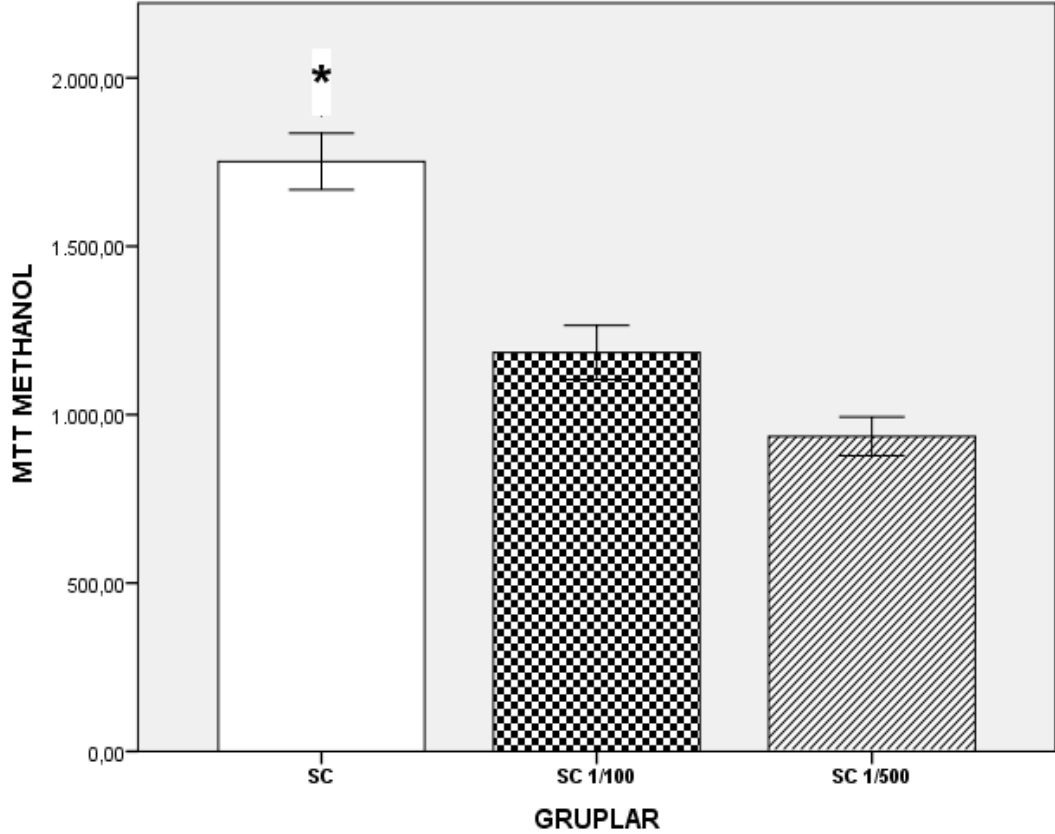
4.1.1. Propolis ve soğanın metanollü ekstraktının Mcf-7 üzerine etkisi

Yaptığımız deneylerde kontrol grubunu propolisin ve soğanın çözücü alkolünü ve konsantrasyonları sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle seyrelterek elde ettik. Propolis için (1/5)-0.2 mg/ml , (1/10)-0.1 mg/ml, (1/20)-0.05 mg/ml konsantrasyonlarını kullandık. Soğan için (1/100)-0.01 mg/ml, (1/500)-0.002 mg/ml konsantrasyonlarını kullandık.



Şekil 4: Propolisin metanollü (1/5)-0.2 mg/ml, (1/10)-0.1 mg/ml , (1/20)-0.05 mg/ml ekstraktının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi. X eksenini pc (propolis kontrol) ve propolis konsantrasyonlarını (1/5, 1/10, 1/20) ifade ederken , Y eksenini ise Mcf-7 hücre miktarını ifade etmektedir.

Elde edilen bulgulara göre, [F(3,47)= 19.055, p< 0.01 ANOVA test] çıkan sonucu incelediğimizde anlamlı bir sonuca rastladık. Propolis kontrol grubuyla kıyasladığımızda propolis 1/5 (0.2) mg/ml’de en yoğun kuyucukta az miktarda hücre canlılığı bulunmaktadır. Propolis 1/10 (0.1) mg/ml’de kontrol grubuna göre ölüm söz konusudur. Propolis 1/20 (0.05) mg/ml’de kontrol grubuyla kıyaslandığında en yüksek hücre canlılığında azalma olduğunu görmekteyiz. Neredeyse her kuyucukta azalma söz konusudur.

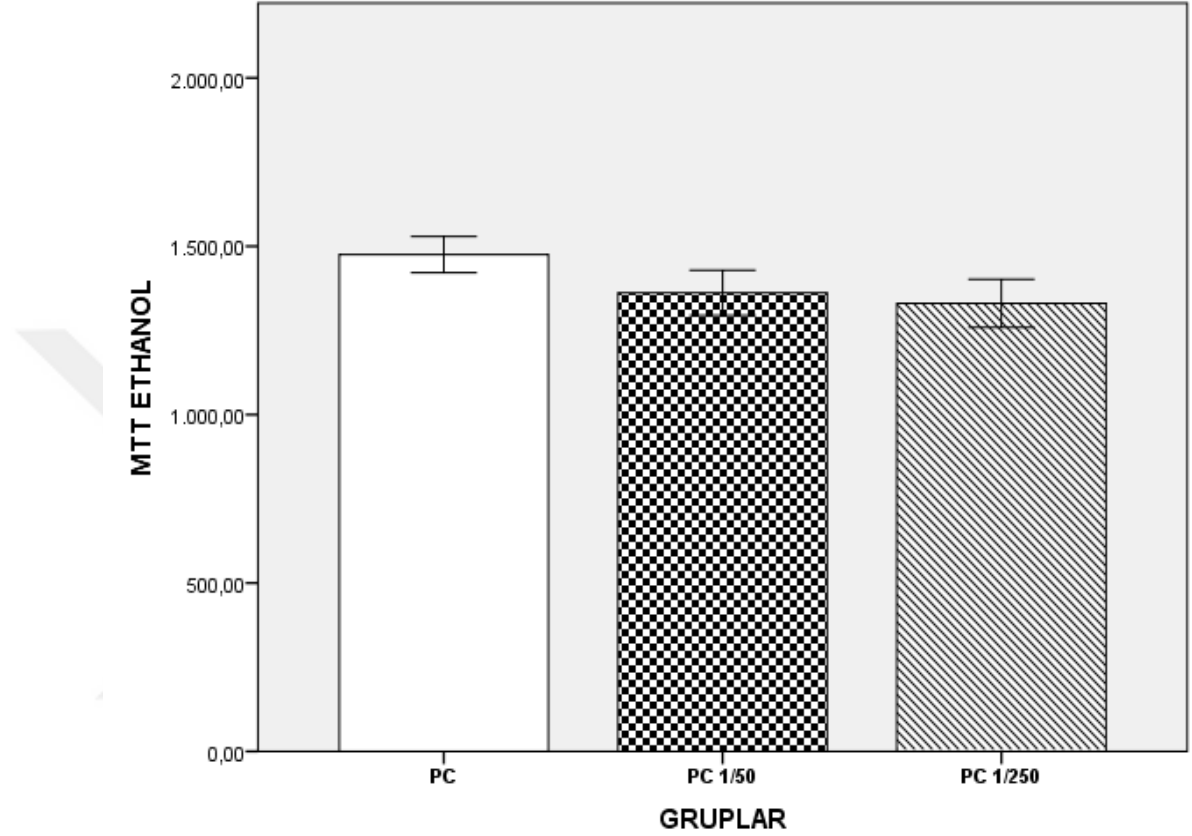


Şekil 5: Soğanın metanollü 1/100-(0.01) mg/ml ve 1/500-(0.002) mg/ml ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi. X eksenini sc (soğan kontrol) ve soğan konsantrasyonlarını (1/100, 1/500) ifade ederken , Y eksenini ise Mcf-7 hücre miktarını ifade etmektedir.

Elde edilen bu bulgulara göre, [F(2,35)= 31,188, p< 0.01 Anova test] çıkan sonucu incelediğimizde anlamlı bir sonuca rastladık. Soğan kontrol grubuyla kıyasladığımızda 1/100 (0.01) mg/ml konsantrasyonunda hücre canlılığında net bir azalma görülmüştür. Canlılığın en fazla azaldığı konsantrasyon ise 1/500 (0.002) mg/ml’de olduğu görülmektedir.

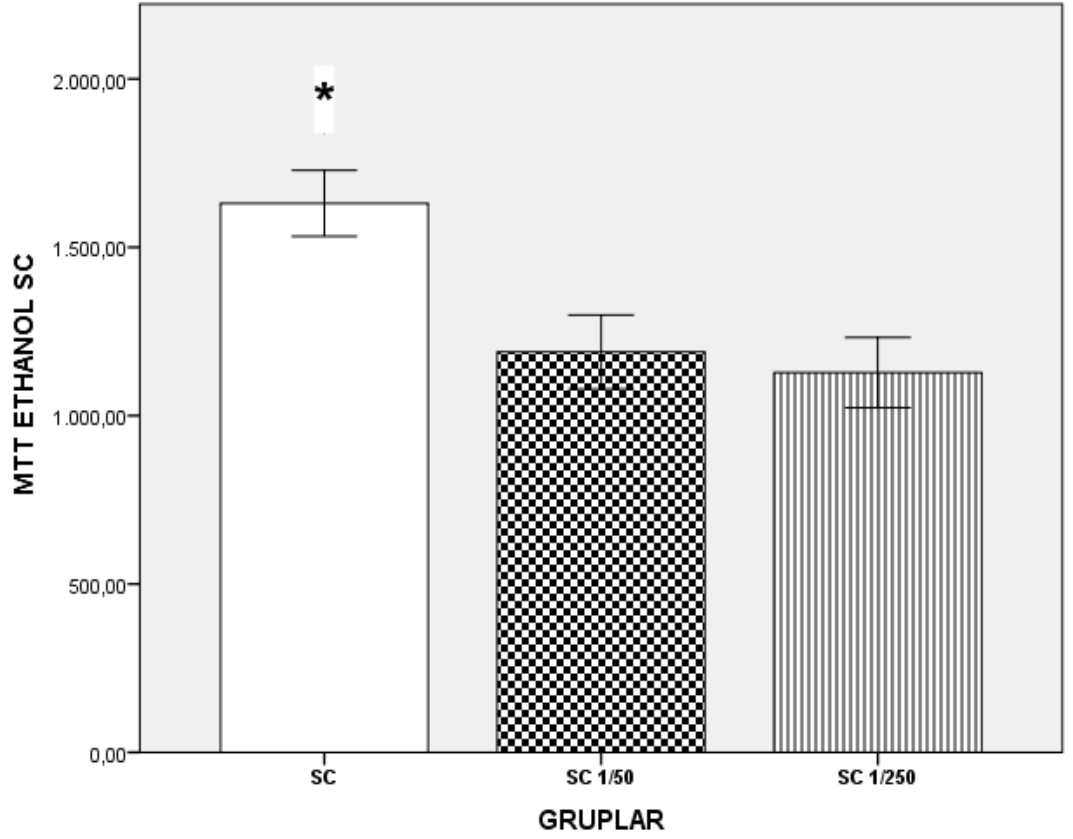
4.1.2. Propolis ve soğanın etanollü ekstraktının Mcf-7 üzerine etkisi

Yaptığımız deneylerde kontrol grubunu propolisin ve soğanın çözücü alkolünü sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle seyrelterek elde ettik. Propolis için 1/50 (0.02) mg/ml , 1/250 (0.04) mg/ml konsantrasyonlarını kullandık. Soğan için 1/50 (0.02) mg/ml, 1/250 (0.004) mg/ml konsantrasyonlarını kullandık.



Şekil 6: Propolisin etanollü 1/50-(0.02) mg/ml ve 1/250-(0.004) mg/ml ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi. X eksenini pc (propolis kontrol) ve propolis konsantrasyonlarını (1/50, 1/250) ifade ederken , Y eksenini ise Mcf-7 hücre miktarını ifade etmektedir.

Elde edilen bu bulguya göre, [F(2,35)= 1,390, p=0.263 Anova test] çıkan sonucu incelediğimizde anlamlı bir sonuca rastlamadık. 1/50 (0.02) mg/ml ve 1/250 (0.004) mg/ml için sonuç anlamlı çıkması da ölüm oranı %20 civarlarındadır.



Şekil 7: Soğanın etanollü 1/50-(0.02) mg/ml ve 1/250-(0.004) mg/ml ekstraktlarının Mcf-7 hücre hattı üzerine etkisi. X eksenini sc (soğan kontrol) ve soğan konsantrasyonlarını (1/50, 1/250) ifade ederken , Y eksenini ise Mcf-7 hücre miktarını ifade etmektedir.

Elde edilen bu bulguya göre, [F(2,35)= 6.941, p<0.01 Anova test] çıkan sonucu incelediğimizde anlamlı bir sonuca rastladık. Soğan kontrol grubuyla kıyaslandığında 1/50(0.02) mg/ml’de net bir şekilde ölüm görülmüştür. 1/250 (0.004) mg/ml’ de net bir şekilde azalma görülmüştür.

4.1.3. Propolis ve soğanın metanollü ekstraktlarının 500, 50, 10 , 5 , 1 µM konsantrasyonlarıyla Mcf-7 üzerine etkisi

Propolisin 1/5 (0.2 mg/ml) ana stoğundan ependorfa 5 ml konulup üzerine 995 ml DMEM eklenip 500 µM ana stok elde edildi. İkinci bir ependorfa 100 µl ana stoktan alınıp 900 µl DMEM eklendi 50 µM stoğu elde edildi. Üçüncü ependorfa ikinci ependorftan 200 µl alınıp üzerine 800 µl DMEM eklendi 10 µM ana stok elde edildi. Dördüncü ependorfa üçüncü ependorftan 500 µl alınıp üzerine 500 µl DMEM eklenildi 5 µM stoğu elde edildi. Beşinci ependorfa dördüncü ependorftan 200 µl üzerine 800 µl DMEM eklenmiştir 1 µM stoğu elde edildi.

Soğanın 1/100 (0.01 mg/ml) ana stoğundan ependorfa 500 µl üzerine 500 µl DMEM eklenip 500 µM ana stok elde edildi. İkinci bir ependorfa 100 µl ana stoktan alınıp 900 µl DMEM eklendi 50 µM stoğu elde edildi. Üçüncü ependorfa ikinci ependorftan 200 µl alınıp üzerine 800 µl DMEM eklendi 10 µM ana stok elde edildi. Dördüncü ependorfa üçüncü ependorftan 500 µl alınıp üzerine 500 µl DMEM eklenildi 5 µM stoğu elde edildi. Beşinci ependorfa dördüncü ependorftan 200 µl üzerine 800 µl DMEM eklenmiştir 1 µM stoğu elde edildi.

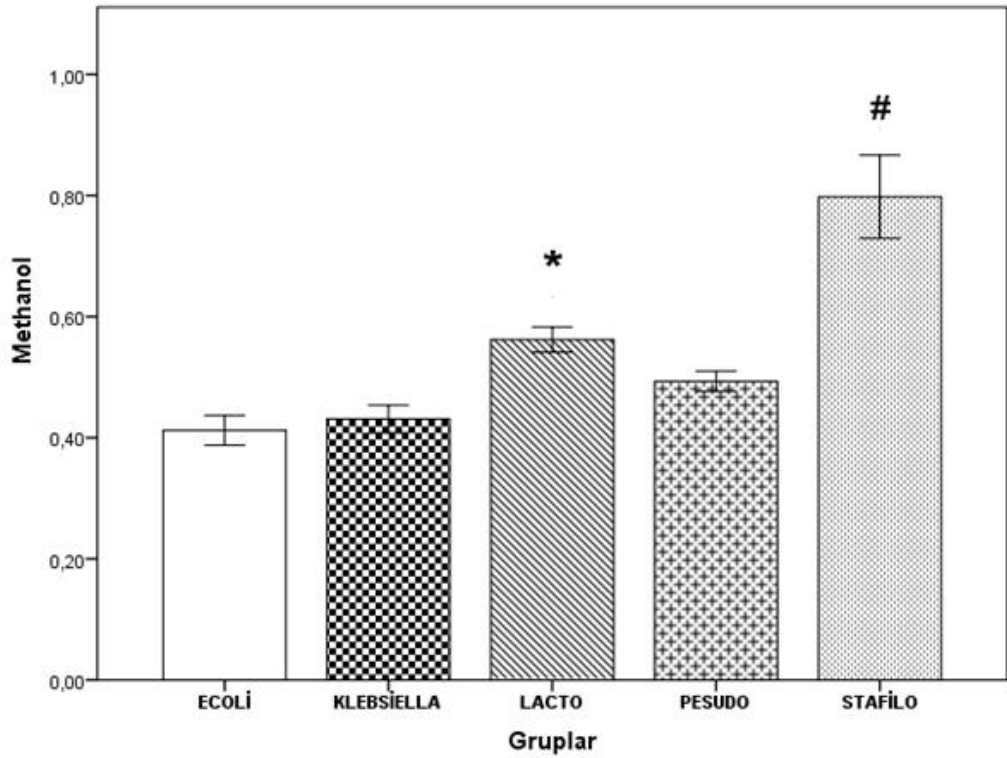
Kontrol	500 µM	50 µM	10 Mm	5 µM	1 µM
Propolis (1.350)	0.721	1.362	1.697	1.447	1.461
Soğan (1.844)	0.054	1.516	1.352	1.444	1.882

Tablo 4: Propolis ve soğanın metanollü ekstraktlarının 500, 50, 10 , 5 , 1 µM konsantrasyonlarıyla Mcf-7 üzerine etkisi. Kontrol grubu absorbans değerleri Propolis (1.350), Soğan (1.844) değerleri üzerinden farklı konsantrasyonların absorbans değerlerinin karşılaştırılmasını ifade etmektedir.

Propolis metanollü kontrol grubu sonucumuz 1.350 çıkmıştır. Soğan metanollü kontrol grubumuz 1.844 çıkmıştır. 500, 50, 10, 5, 1 µM konsantrasyonları ile kontrol gruplarını kıyasladığımızda, her iki ekstrakt içinde en yüksek hücre canlılığında azalma oranının propolis ve soğan ekstraktları için 500 µM (1 mg/ml) olduğu bulunmuştur.

4.2. *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Klebsiella pneumoniae* bakterileri için metanollü, metanollü LB, etanol ile seyreltilmiş antimikrobiyal deney sonuçları

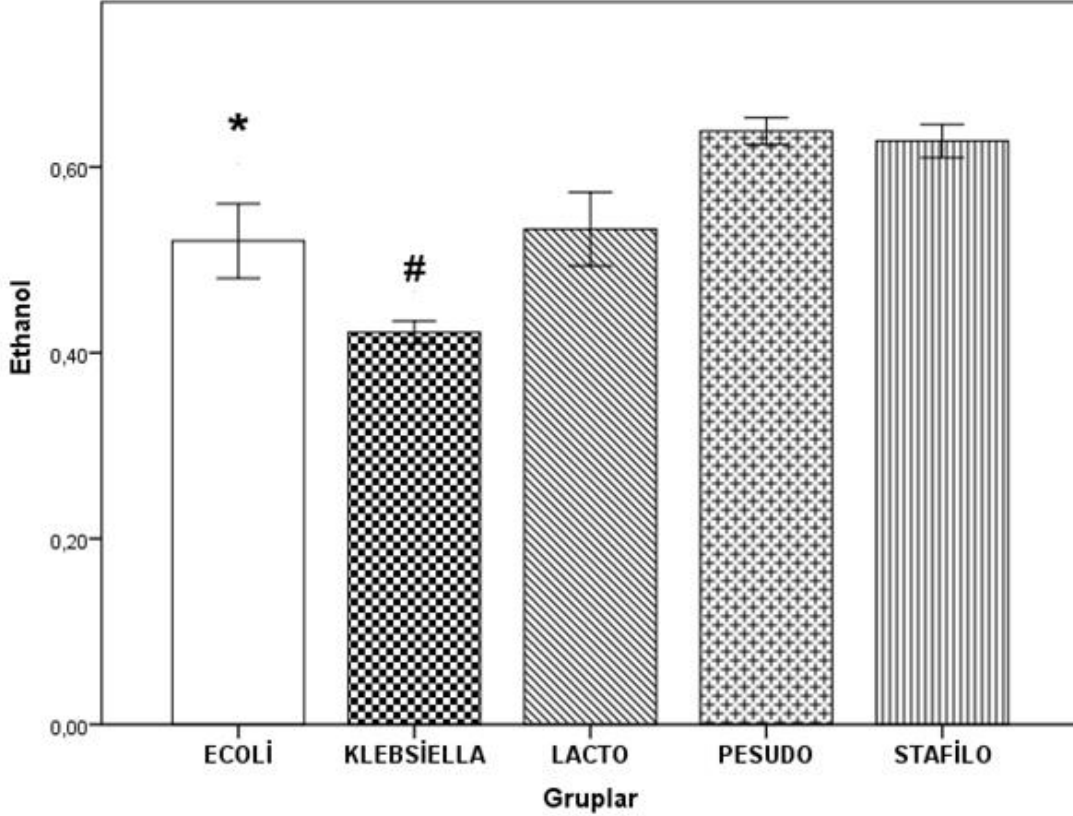
Yaptığımız deneylerde kontrol grubunu propolisin ve soğanın çözücü alkolünü ve konsantrasyonları sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle seyrelterek elde ettik. Metanollü propolis için 1/5-(0.2) mg/ml, 1/10-(0.1) mg/ml, 1/20- (0.05) mg/ml konsantrasyonlarını kullandık. Soğan için 1/100- (0.01) mg/ml, 1/500-(0.002) mg/ml konsantrasyonlarını kullandık. Metanollü LB propolis için 1/1000-(0.001) mg/ml, 1/100-(0.01) mg/ml soğan için ise 1/100-(0.002) mg/ml, 1/500(0.01) mg/ml konsantrasyonlarını kullandık. Etanollü ekstraktlarda propolis için 1/50-(0.02) mg/ml, 1/250-(0.004) mg/ml soğan için ise 1/50- (0.02) mg/ml, 1/250-(0.004)mg/ml kullanılmıştır.



Şekil 8: Propolisin ve Soğanın *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Klebsiella pneumoniae* bakterileri için metanollü ekstraktlarının sonuçları , X eksenini propolis ve soğan konsantrasyonlarını ifade ederken, Y eksenini ise bakterilerin miktarını ifade etmektedir.

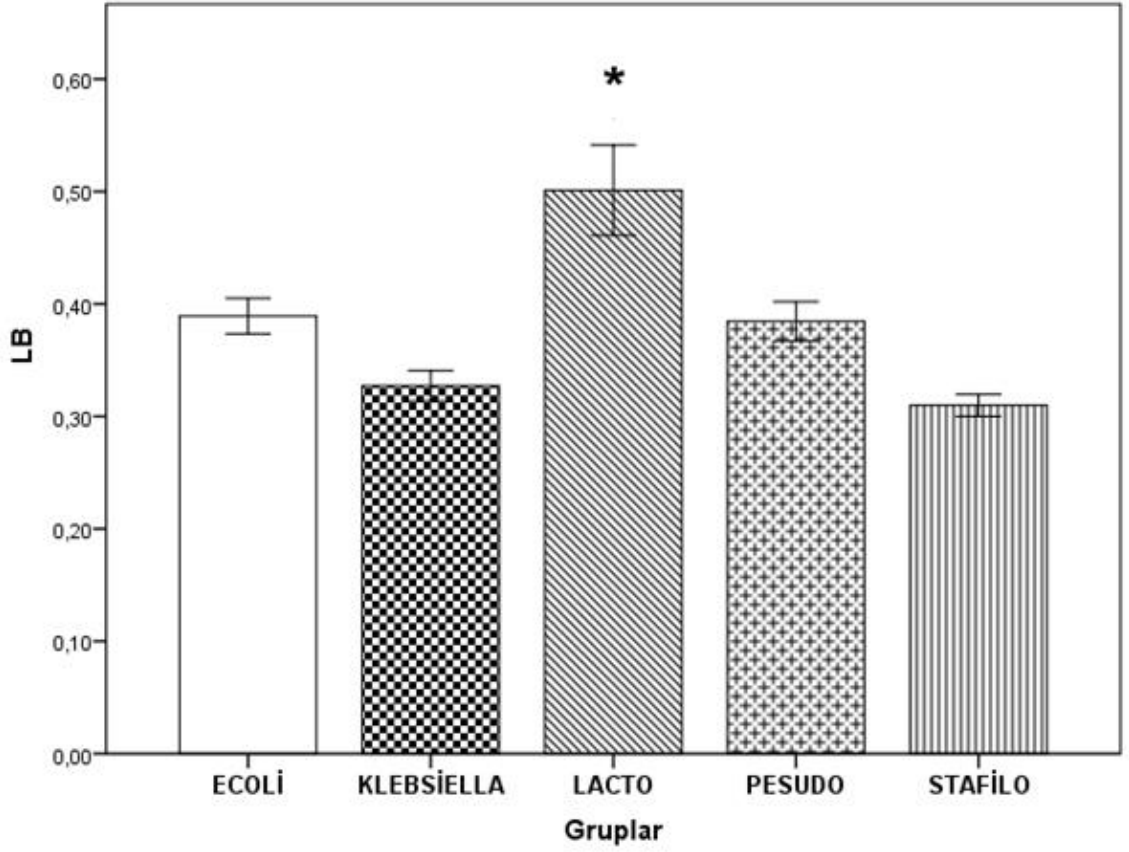
Elde edilen bu bulguya göre, [F(4,59)= 18.570, p<0.01 Anova test] sonuçlarına göre metanollü ekstraktlar anlamlı bir etki yarattı. Gruplar post-hoc analizi uygulandığında *Lactobacillus sp.* suşu *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'ye

göre sırasıyla ($p=0.039$ ve $p= 0.092$, Tukey test) sonuçlarını vermiştir. En anlamlı sonucun *Staphylococcus aureus*'ta olduğu görülmüştür. Sırasıyla *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* *Lactobacillus sp.*, *Pseudomonas aureginosa* ($p<0.01$; $p<0.01$; $p<0.01$; $p<0.01$, Tukey test) olduğu görülmüştür.



Şekil 9: Propolis ve Soğanın *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aureginosa*, *Klebsiella pneumoniae* bakterileri için etanollü ekstraktlarının sonuçları, X eksenini propolis ve soğan konsantrasyonlarını ifade ederken, Y eksenini ise bakterilerin miktarını ifade etmektedir.

Elde edilen bulgulara göre, [$F(4,59)= 10.205$, $p<0.01$ Anova test] sonuçlarına göre metanollü ekstraktlar anlamlı bir etki yarattı. Gruplar post-hoc analizi uygulandığında *Escherichia coli* suşu sadece *Pseudomonas aeruginosa* suşu için ($p= 0.031$ Tukey test) etkisi göstermiştir. *Klebsiella pneumoniae* suşu sırasıyla sonucun *Lactobacillus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* için ($p=0.049$; $p<0.01$; $p<0.01$, Tukey test) olduğu görülmüştür.



Şekil 10: Propolis ve Soğanın *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* bakterileri için metanol LB ekstraktlarının sonuçları, X eksenini propolis ve soğan konsantrasyonlarını ifade ederken, Y eksenini ise bakterilerin miktarını ifade etmektedir.

Elde edilen bulgulara göre, [F(4,59)= 11.505, p<0.01 Anova test] sonuçlarına göre metanollü ekstraktlar anlamlı bir etki yarattı. Gruplar post-hoc analizi uygulandığında *Lactobacillus sp.* suşu sırasıyla ölümleri *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* için (p<0.001; p<0.01; p<0.01; p<0.01, Tukey test) olduğu görülmüştür. Bu durum bizi destekler niteliktedir. Metanol ile yaptığımız deneyin sonucunda *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus sp.* için 0.025 mg/ml'de ölüm olduğuna rastlanmıştır. Bu etkilenmelerin sadece metanol kaynaklı olduğu düşünüldüğünden metanollü LB'li ekstraktlarda sadece *Lactobacillus sp.* etkilenmiştir. Ethanollü sonuçlara baktığımızda ise sadece *Klebsiella pneumoniae* etkilendiği görülmüştür. Her grup için tek bir klinik suşun etkilenmesi propolis ve soğan için bakterilerde antimikrobiyal etkiye neden olmadığını göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda insan sağlığında kullanılan kimyasal ilaçların etkinliğinin gitgide azalmasından dolayı ekonomik açıdan yaşanmasından dolayı insanlarda doğal bileşenlere yönelim söz konusu olmaktadır. Bilinen ve en hızla yaşanan yönelim arı ürünlerindedir. Pek çok arı ürününün antibakteriyel, antitümör, antiseptik, antiinflamatuar, antifungal özellikleri çalışılmış ve kanıtlanmış olduğundan dolayı tıpta, ilaçta, gıdada kullanım olarak sıkça tercih sebebidir. Apiterapi ile tedavi sıkça uygulanmaktadır. Arı ürünlerinin en çok tercih şekli ‘doğal antibiyotik’ olarak kabul edilen propolistir (Yücel ve ark., 2014).

Propolis bal arılarının (*Apis mellifera* L.) sarıdan kahverengiye değişen renklere sahip reçinemsî ve yapışkan yapıda olan maddedir. İşçi arılar propolisi kovana korumak çatlakları kapatmak için kullanırlar. Kovanda hava sirkülasyonunu sağlamak içinde propolisin bu zamk görünümlü yapısı kullanılmaktadır (Silici, 2008).

Propolis tıpta sıkça kullanılmasının yanı sıra dolaşım sistemi rahatsızlıkları, kanserde, deri hastalıklarında ve tedavisinde de sıkça kullanılmaktadır. Propolis yarıca antibakteriyel, antifungal, antiviral, antioksidan, antiinflamatuar etkilere de sahiptirler (Polat ve Koçan, 2006).

Allium cepa, Alliaceae (Soğangiller) familyasındandır. Daha önceleri Zambakgiller (Liliaceae) ailesinden olduğu söylenmiştir (Brewster, 1994).

Üzerinde iki veya üç katlı zar bulunmaktadır. 20-30 cm ve küresel ya da armuda benzemektedir. Doğal yaşamda pek çok yabani tipi mevcuttur. Kökü 100 cm’ye varan uzunlukta ve 30 cm’ye kadar incilir ve hafifce şişkindir. Esas olan yaprakları uzun ince ve yeşil renktedir. Çoğunlukla bir ya da iki yıllıklardır. Çiçekleri küre şeklinde ve pembe ya da beyazdır. Tohumları genellikle siyah renktedir (Dinçoğlu ve Temamoğulları, 2010).

Soğan önemli antioksidanlardan olan flavonoidler, antosiyaninler, kuersetin ayrıca alkil/alkalen sistein sülfoksitler bakımından zengin bir bitkidir. Soğan antikanserojen, fibronelitik, antifungal ve antibakteriyel etkisi olduğu bilinmektedir. Soğan ve elma neredeyse aynı oranda kuersetin içermektedir fakat soğandaki kuersetin

biyoyararlanım oranı daha yüksektir. Kuersetin güçlü bir antioksidandır antikanserojen, antifungal, antiallergenik etkisi yüksektir. Meyve, sebze, çay, fındık, bademde bol miktarda bulunmaktadır (Yılmaz, 2010).

Bizde bu çalışmamızda bu bilgiler ışığında yola çıkarak propolis ve soğan kullanmayı hedefledik. Mcf-7 hücre hattını soğan ve propolisin metanollü ve etanollü iki farklı çözücüde değişik konsantrasyonlar elde ederek antikanser etkinliğini incelemeye başladık. 5 adet klinik olarak izole edilen bakterilerin *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus sp.* suşlarında soğan ve propolisin metanollü ve etanollü iki farklı çözücüde değişik konsantrasyonlar elde ederek antimikrobiyal etkinliğini incelemeye başladık.

Trabzon ilinden toplanan propolis örneklerini Turan ve arkadaşları karaciğer, kolon, meme, serviks ve prostat kanseri hücre hattında incelemiştir. Etanolik olarak hazırladıkları propolis örnekleri ve antioksidan olarak kuersetin kontrol grubu olarak ise kemoterapi ilacı olarak kullanılan cisplatin kullanılmıştır. Hücrelerin sitotoksik etkilerini MTT canlılık testiyle elde etmişlerdir. 72 saat sonunda Mcf-7' nin 2 µg/ml olduğu ortaya konulmuştur (Turan ve ark., 2015).

Bilkent Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda yapılan Trabzon ilinden toplanan propolis örneğini incelemiştir. Uğurlu'nun çalışmasında sıklıkla kullanılan metanol, etanol, su ya da kloroform ekstresi yerine DMSO kullanmıştır. Mcf-7 meme kanseri hücre hattında sonucunda iki farklı dozda olan propolis ekstraktlarından en iyi IC₅₀ değerini 25-123 µg/ml olduğunu ortaya koymuştur (Uğurlu, 2012).

Çalışmamızda Türkiye'nin Malatya yöresinden Nisan ayında topladığımız propolislerimizi metanol ve etanolla farklı konsantrasyonlarda hazırladık. Kontrol grupları için metanol ve etanolün çözücülerini kullandık. %65'lik metanollü propolis karışımımızı 1/5 (0.2 mg/ml), 1/10 (0.1 mg/ml), 1/20 (0.05 mg/ml) olarak belirledik. Mcf-7 hücrelerinin pasajlanıp pleytlere ekildikten sonra bir gece CO₂ inkübatörde çoğalmaları sağlanmıştır. Hücreleri 96 well pleyte ektik. Kontrol grupları için sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle etanol ve metanolü çözücülerini kullandık. Hücrelerimize de aynı şekilde sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle etanollü ve metanollü propolis ve soğan

konsantrasyonlarımızı hazırladık. Hücre canlılığını incelediğimizde en yüksek azalmanın 96 well pleytte 0.2 mg/ml ve 0.1 mg/ml için yoğunluğun en çok olduğu ilk iki kuyucukta 0.05 mg/ml dozu için ise kontrol grubuyla kıyaslandığında 12 kuyucuğa kadar hüce canlılığında azalma olduğu görülmüştür. %99.9'luk etanollü çalışmamız için ise 1/50 (0.02 mg/ml) ve 1/250 (0.04 mg/ml) dozları hazırlanmıştır. Kontrol grubuyla kıyaslandığında her konsantrasyonda sadece %20'lik bir azalma oranı görülmüştür. Fakat her doz için muhakkak bir azalma söz konusudur.

Yapılan çalışmamızda hücre canlılığının propolis ve soğandaki tayini için MTT testini kullandık. Litaretürde Hücre canlılığı testleri XTT, MTS, WST-1 olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. MTT'yi tercih sebebimiz maliyeti düşük, 1950'li yıllardan beri kullanılıyor olması ve hata payının daha düşük olmasıdır. Ayrıca literatür taramalarında Mcf-7 hücre hattında sıklıkla MTT yöntemi kullanıldığı bizim tercihimizde bu yönde şekillenmiştir. Hücre canlılığını kontrol grubuyla kıyasladığımızda en yüksek hücre ölümünün propolisin renk yoğunluğuna rağmen en yüksek azalmanın en yoğun konsantrasyonlarda olduğu görülmüştür. Propolisin etanollü çalışmamız için ise (Kumova ve ark., 2002)'nin belirttiğinin aksine kontrol grubuyla kıyaslandığında her dozda azalma vardır fakat sadece %20'lik bir azalma oranı görülmüştür. Bu oran kanser hücreleri için yüksek bir oran değildir.

Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Sakallı yüksek lisans çalışmasında doğal bir bitki ekstraktı olan emodinin Mcf-7 ve Mda-237 hücre hatlarını emodini DMSO ile çözerek farklı dozlarda konsantrasyonlar elde etmiştir. Canlılık testini XTT ile yapmıştır. XTT kullanmasının nedeni yeni bir yöntem olması ve reaktif hemen ölçüldüğünden dolayı formazan ürünü ile sonuçlandırılmasına bağlamıştır. Sonuç olarak en yüksek dozda ölüm gözlememiştir (Sakallı, 2010). Bir başka çalışma ise Saygılı ve arkadaşları farklı coğrafik bölgelerden 8 farklı propolis örneği toplayıp Mcf-7 ve Mcf10A hücre hattında canlılığını WST-1 yöntemiyle ölçmüşlerdir. Bu ölçüm sonucunda hücre canlılığı oranının en yüksek dozda gerçekleştiğini kanıtlamışlardır (Saygılı ve ark., 2012).

Malta'da Zammit ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Malta'nın çeşitli bölgelerinden toplanan dört propolis örneği incelenmiştir. Propolis 1 örneği Malta'nın güneyinden Mart ayında toplanmıştır. Propolis 2 örneği ise 1 ile aynı bölgeden fakat Kasım ayında toplanmıştır. Propolis 3 örneği Malta'nın merkezinden Temmuz ayında

ve Propolis 4 örneği 2002 yılının Haziran ayında 1 örneği ile aynı bölgenin başka bir kısmından elde edilmiştir. Konsantrasyonların tamamı metanol ile hazırlanmıştır. Kanser hücre hatları olarak kolon kanseri, meme kanseri, melanoma kanseri, ovaryum kanseri ve lösemi olarak 4 farklı kanser hücre hattı kullanılmıştır. MTT canlılık testi ve 24, 48, 72 saat aralıkları kullanılmıştır. En iyi sitotoksitite etkisi Mcf-7 hücre hattı için propolis 1 ve 2' de görülürken propolis 3 ve 4 daha az toksik olduğu ortaya konmuştur (Zammit ve ark., 2013).

Polonya'da yapılan bir çalışmada Polonya'nın güneyinden 2009 yılının Aralık ayında toplanmıştır. Antioksidan, antimikrobiyal ve antitümör açısından incelenmek istenmiştir. Metanolla elde edilen propolis ekstraktlarından 50 ve 100 µg/ml olacak şekilde iki farklı dozda hazırlanmıştır. Bu hazırlanan dozlar stok olarak belirtilmişlerdir. 2 adet kemoterapide kullanılan kimyasal ilaçlar sınıfına giren (Doksorubisin ve Farmorubicin) kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Propolisin aktif bir bileşeni olan CAPE yüksek antioksidan özellik göstermiştir. Temel olarak 5 farklı hücre Mcf-7, CaCo-2 , Ln-18, L-929, A549 hatları incelenmiştir. Her hücre hattı ayrı ayrı 4 farklı hücre hattıyla kıyaslanmıştır. Mcf-7, Mda-Mb-231, U87, Ln-18, L-929 kullanılmıştır. Canlılık testi için MTT kullanılmıştır. Her iki ekstrakt içinde 1 µg/ml dozunda en yüksek azalma tespit edilmiştir (Popova ve ark., 2017).

Çin'de yapılan bir çalışmada Xuan ve arkadaşları Mcf-7 ve Mda-Mb-231 hücre hatları için çin propolisinin antitümör etkisini ortaya koymuşlardır. Yaptıkları araştırmaya göre hücre %95'lik etanollü propolis ekstraktını farklı dozlarda hazırlamışlardır. MTT canlılık testiyle hücre canlılığına baktıklarında en yüksek azalma oranının 200 µg/ml olduğunu tespit etmişlerdir (Xuan ve ark., 2014).

Taramalarımızda propolis ve soğanın antikanser ve antimikrobiyal özelliklerin ayrı ayrı çalışıldığına rastladık asıl hedefimiz soğan ve propolisi karıştırarak çözeltiler elde etmektir. Fakat propolisten kaynaklı olarak çökelmeler meydana gelmiştir. Çökelmeleri en aza indirmek için alkol yüzdesini arttırdığımızda da ölümlere neden olanın kullanılan alkol olduğunu farkettiğimizden dolayı soğan ve propolisi ayrı ayrı çalıştık. Fikrimize benzeyen bir çalışmayı Mısır'da Hala ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada gördük. Polen ve propolis karışımında karışımın kimyasal profili, antioksidan, antikanser etkinliği incelenmiştir. %98 ve %70 etanol çözeltilerini 1:1

oranında karıştırmışlardır. Hücre hattı olarak Hepg-2 ve Mcf-7 hücre hatlarını kullanmışlardır. Her iki hücre içinde en yüksek ölüm oranını %70'lik polen ve propolis karışımında olduğunu tespit etmişlerdir (Hala ve ark., 2016).

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda yapılan Yenisey ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği Meme ve Kolon kanserinde farklı dozlarda inceledikleri propolis ekstraktlarının hücrede yaptığı apoptozu incelediklerinde en yüksek dozda Mcf-7 meme kanseri hücre hattı için 1 µg/ml'de azalma olduğunu kanıtlamışlardır (Yenisey, 2010).

Makale taramalarında mantık olarak bizim çalışmamıza benzer ama etken madde kullanımı olarak farklı maddeler çalışılmış bir çok makaleye rastladık. Yaptığımız bir diğer çalışmada metanollü propolis ekstraktını 500 µM, 50 µM, 10 µM, 5 µM, 1µM oranlarında hazırladık. En yüksek azalma oranının 500 µM'de gerçekleştiğine karar verdik. Karabekir ve arkadaşlarının resveratrolün DMSO ile çözüldükten sonra Mcf-7 üzerindeki apoptik etkisini araştırırken bizimle aynı oranları kullanıp farklı bir etken madde olan resveratrolü tercih etmişlerdir. Sonuç olarak en yüksek hücre canlılığında azalma oranları bizi destekler nitelikte en yoğun konsantrasyonda bulmuşlardır (Karabekir, 2016).

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar hayvan deneyleri, meme kanserinin hormona daha fazla bağımlı olduğunu ilk çocuk sahibi olunan yaş ve çeşitli faktörlerin meme kanseriyle ilişkili olduğunu göstermiştir. Yapılan bazı çalışmalarda da yeme düzeninin değiştirilmesinin meme kanserini azaltmada etkili olduğunu göstermektedir (Brennan ve ark.,2010). İtalya'da klinikte yapılan bir çalışmada bu tezi destekler niteliktedir. 1991-1994 yılları arasında toplanan veriler ışığında ülkenin çeşitli bölgelerinden ağız boşluğu (farinks), özagafus, kalın bağırsak, larinks ve meme kanseriyle ilgili ve 8 gruptan oluşan bir çalışma yapılmıştır. Her bir kanser grubu için hasta sayısı ve yaş, kontrol grubu ve yaş olmak üzere iki grup belirlenmiştir. Kullanılmak istenilen yaş aralığı kanser riski göze alındığında 50 yaş ve üzeridir. Meme kanseri için 2900 hasta birey yaş için ise 57 yaş tercih edilmiştir. Kontrol grubunda 3122 sağlıklı birey yaş için ise 57 yaş tercih edilmiştir. Bütün bireylere çeşitli sorular yönetilmiştir. Her bir bireyin yaşam tarzı, günlük alışkanlıkları, sigara ya da alkol kullanıp kullanmadığı, beslenme tarzları hakkında bilgi edinilmek için bir anket

hazırlandı. Anketin beslenme tarzı bölümünde günlük tüketimde tahıl grubu, et-balık, sebze, meyve, tatlı, süt-alkolsüz içecekler soruldu ve hiç yenilmeyene 0 puan verilmesi yenilen için ise 0.5 puan verilmesi uygun görüldü. Haftada en az bir kez yenen yemeklerde sorulmuştur. Özellikle soğan ve sarımsak tüketimi için iki soru soruldu. Soğan için hastalık tüketim 80 gr'ı geçen bireylerde soğanın boyutuda sorulmuştur. Sonuç olarak çok yoğun soğan kullanan bireylerde 7 adet kanser türünde azalma olduğu keşfedilmiştir (Galeone ve ark., 2006).

Bu etkiler göz önüne alınarak günlük beslenmemizde sıkça kullandığımız soğanı çalışmaya karar verdik. Herhangi bir marketten aldığımız *Allium cepa* bitkisini kurutup daha sonra kullanmak üzere sakladık. Rastlanılan bütün çalışmalarda farklı çözücüler kullanılmıştır. Sakladığımız kuru soğanları metanollü ve etanollü olarak farklı dozlarda ekstraktlar hazırladık. Mcf-7 hücrelerinin pasajlanıp pleytlere ekildikten sonra bir gece CO₂ inkübatörde çoğalmaları sağlanmıştır. Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle hücreleri 96 well pleyte ektik. Üzerlerine 1/100 (0.01 mg/ml) ve 1/500 (0.002 mg/ml) oranlarında metanollü soğan ekstraktı ilave ettik. Diğer çalışmamızda da 1/50 (0.02 mg/ml) ve 1/250 (0.004 mg/ml) oranında etanollü soğan ekstresi hazırladık. Aynı şekilde hücrelerimizi 96 well pleyte ektik. Kontrol grupları için sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle etanol ve metanolü çözücülerini kullandık. Hücrelerimize de aynı şekilde sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle etanollü ve metanollü propolis ve soğan konsantrasyonlarımızı hazırladık. Hücre canlılığı testi için propoliste olduğu gibi MTT testini tercih ettik. Beklenen 48 saatin sonunda en yüksek canlılık azalmasının metanollü ekstraktlarda 0.01 ve 0.002 mg/ml için kontrol grubu göz önünde bulundurularak 12 kuyucukta da azalma olduğunu gösterdik. Etanollü ekstraktlar için ise kontrol grubuyla kıyaslandığında 0.02 mg/ml konsantrasyonunda 0.01 ve 0.005 mg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığında net bir azalma rastlanmıştır. Soğanın 0.004 mg/ml konsantrasyonu için ise 0.002 ve 0.001 mg/ml'de hücre canlılığında azalma görülmüştür.

Mısır'da Gomaa'nın yaptığı bir çalışmada *Allium cepa* bitkisinin gümüş nanopartiküller yardımıyla antioksidan, antimikrobiyal, antitümör etkilerini ortaya koymaya çalışmıştır. Bu deneyin sonucu bizi de destekler niteliktedir. Üç farklı kanser çeşidi Mcf-7, HepG-2, HCT-116 üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Doz miktarını belirlemek için MTT testi kullanılmıştır. Elde edilen nanopartiküllerin farklı dozlarında

uygulanması sonucunda kanser hücreleri arasında en etkili sonucun 1.6 µg/ml ile Mcf-7 hücresinde görülmüştür (Gomaa, 2017).

Literatür taramaları yapılırken başlı başına sadece soğanın kullanıldığı Mcf-7 kanser hücresine ait bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapılan çalışmalar daha çok soğanın aynı familyadan olup farklı çözücülerde ve Mcf-7'nin de hakim olduğu farklı hücre hatları ile yapılan ve içerdiği etken maddelere dayalı deneyleridir. İran'da yapılan bir çalışmada Alliaceae (Soğangiller) familyasına ait *Allium hirtifolium* bitkisinin sahip olduğu allisin etken maddesinin mikrotübül ve kanser hücre hatlarına etkisi araştırılmıştır. Bitki kurutulduktan sonra çözücü madde olarak kloroform kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak ise su kullanılmıştır. HeLa, L-929, Mcf-7 hücre hatları kullanılmıştır. HPLC yöntemiyle soğanın içerisindeki allisin oranı ortaya çıkarılmıştır. Hücre canlılığı testleri MTT yöntemiyle farklı konsantrasyonlarda tayin edilmiştir. En yüksek azalma oranı HeLa en düşük ölüm oranı ise L-929 hücresinde görülmüştür. L-929 sağlıklı hücrede görülmesi deneyin doğruluğunu kanıtlar niteliktedir (Azadi ve ark., 2009).

Sak yaptığı bir çalışmada *Allium* türlerinin yüksek oranda kuersetin içerdiği kuersetinin antitümör etkisinin güçlü olduğu çoğu Mcf-7 kanser riskini azalttığını göstermiştir. Aynı oranda kolon kanseri riskini de azalttığını kanıtlamıştır (Sak, 2014).

Yapılan derleme bir makale de İslam ve Arap ülkelerinde yapılan farklı bitkiler üzerindeki çalışma sonucunda günlük olarak da tükettiğimiz *Allium cepa* ve *Allium sativum* bitkilerinin kanseri riskini azalttığı sonucuna varılmıştır. Sarımsak bitkisi için kolon, göğüs, akciğer kanser riskini azalttığı soğan bitkisi için ise özafagus, mide ve kolon kanseri riskini azalttığı tespit edilmiştir. %30-50 oranında anlamlı derecede prostat kanseri riskini azalttığı belirtilmiştir (Ahmad ve ark., 2016).

Bakteriler için propolisin antimikrobiyal etkisi uzun yıllardır bilinmektedir. Yapılan pek çok araştırma da bu özellik kanıtlanmaya çalışılmıştır. Bizde bu bilgiler ışığında Malatya'nın Doğanşehir yöresinden elimize ulaşan ham propolis örneklerini metanollü, etanollü ve LB metanollü olarak denedik. Türkiye'de farklı çözücü ve propolis örnekleriyle yapılan pek çok çalışmaya rastladık. Yapılan bir çalışmada Türkiye'de Bingöl yöresinden toplanan propolis ve bal örneklerinin antimikrobiyal özellikleri üzerinde bir çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmada Bingöl yöresinin 4 farklı

ilçesinden getirilen propolis örneklerinin etanolik ekstraktları, aseton, kloroform, etil asetat farklı çözücülerde konsantrasyonları elde edilmiştir. Çalışmada bizim çalışmamıza benzer olarak *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* suşları ve 10 farklı bakteri ve 1 mantar suşu kullanılmıştır. Çalışma yöntemi olarak disk difüzyon yöntemi tercih edilmiştir. Oluşan zonlara göre antimikrobiyal en yüksek etkinin etil asetat çözeltisinde bütün bakterilerde etkili olduğu diğer etkili çözücünün ise kloroform olduğu belirtilmiştir (Aksoy ve Dığrak, 2006).

Türkiye’de yapılan başka bir çalışmada Muş ve Bitlis yöresinden toplanan 3 propolis örneklerinin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Çalışmalarında *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* suşlarını kullanmışlardır. Çalışma yöntemi olarak disk difüzyon yöntemi seçilmiştir. En fazla antimikrobiyal etki *Pseudomonas aeruginosa*’ da elde edilirken en az etkinin ise *Escherichia coli*’ de olduğu belirlenmiştir (Alan ve ark., 2014).

Yapılan çalışmalarda daha çok antimikrobiyal etkisi için disk difüzyon yöntemi tercih edilmiştir. Minimal inhibisyon için mikrobrot dilüsyon yöntemi tercih edilmiştir. Ham propolis ve klinik suş izolatları üzerine yaptığımız çalışmamızda sıvı mikrodilüsyon yöntemini tercih ettik. Metanollü olarak hazırladığımız ekstraktlarımızda 1/5 (0.2 mg/ml), 1/10 (0.1 mg/ml), 1/20 (0.05 mg/ml) oranlarını kullandık. Kontrol grubumuz olarak propolis çözücü (%95’lik metanol). LB ile bu metanol oranlarını seyretmek istedik fakat propolisten dolayı çökelme olduğu için oranlarımızı yükselttik 1/1000 (0.001 mg/ml) tekrar 1/1000 oranı içerisinde 1/100 (0.01 mg/ml) oranına seyrelttik. Kontrol grubumuzu aynı şekilde (%95’ lik metanol) Lb ile seyrelttik. Etanollü örneklerimizi ise 1/50 (0.02 mg/ml), 1/250 (0.004 mg/ml) oranlarında seyrelttik. Kontrol grubu için propolis (%99.9 etanol) kullandık. 96 well pleyte 10 µl çözücülerden ilave ettik. Üzerine 10 µl hazırladığımız konsantrasyonlardan ilave ederek sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle seyrelttik sonra 90 µl bakteri ilave ettik. Metanollü çalışmamızda *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus* 0.2 mg/ml dozu için 0.025 mg/ml antimikrobiyal etki gördük. Bu etkinin neden olanın metanol ya da propolis olduğunu bilmediğimizden LB ile seyreltme yöntemini kullandık. Bu yöntemin sonucunda herhangi bir antimikrobiyal etkiye rastlamadık. Yapılan çalışmaların çoğu etanolik ekstrenin farklı alkol konsantrasyonlarında olduğu

için tekrar etanollü ekstraktlar hazırladık. Bu ekstraktlardan da net bir antimikrobiyal etkiye rastlamadık. Yapılan çalışmalarda teyit etmek için LB ile seyreltilmiş herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Sonuç olarak Kujumgiev ve arkadaşlarının çalışmalarında belirttikleri gibi propolisin toplandığı yer ve olduğu bölgeye göre içerikleri değişiklik göstermektedir (Kujumgiev ve ark., 1999). Bu nedenle propolisin sahip olduğu içerik antimikrobiyal, antitümoral etkileri değiştirebilmektedir.

Selçuk Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda Deniz'in yaptığı yüksek lisans tezinde Konya ilinde tüketilen bazı balların antimikrobiyal etkisini araştırmıştır. Deniz yaptığı çalışma da Mikrobroth dilüsyon yöntemini kullanmıştır. Yaptığı çalışmanın sonucu olarak bal örnekleri için *Escherichia coli*'nin 2 ayrı suşunda herhangi bir etki göremezken *Staphylococcus aureus*' un 1 suşunda etki görülürken, *Pseudomonas aeruginosa*' nın tüm ballarda etkili sonuç verdiğini söylemiştir (Deniz, 2012).

Kayseri yöresinden toplanan propolisin etanolik ekstraktı üzerine yapılan çalışmada *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* suşları kullanılmıştır. En iyi antimikrobiyal etkinin *Staphylococcus aureus* üzerinde olduğu tespit edilmiştir (Kaya ve ark., 2012).

Silici ve Kaftanoğlu yaptıkları çalışmada Türkiye' nin 9 farklı ilinden topladıkları propolis örneklerini antimikrobiyal özellikleri olarak *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* olarak incelediklerinde en yüksek antimikrobiyal etkinin *Staphylococcus aureus* en düşük aktivitenin ise *Escherichia coli*' de olduğunu bildirmişlerdir (Silici ve Kaftanoğlu, 2003).

Hindistan' da Turnia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Meghalaya' dan toplanan propolis örnekleri metanolde çözüldürülmüştür. *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* suşları kullanılmıştır. Sıvı dilüsyon yöntemine göre *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* 100 µg/ml' de en yüksek ölümü gösterirken *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ise 20 µg/ml' de ölüm görülmüştür. Araştırmacılar gram negatiflerin gram pozitiflere göre daha direnç gösterdiği ve yüksek konsantrasyonlarda azaldığını gözlemlemişlerdir (Turnia ve ark., 2015).

Polonya’da yapılan bir çalışmada Polonya’nın güneyinden 2009 yılının Aralık ayında toplanmıştır. Metanolik olarak elde edilen örneklerde *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* kullanılmıştır. Çalışmalarında minimum inhibisyon için sıvı mikrodilüsyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak oluşan zon ve minimum inhibisyon yöntemi oranlandığında en yüksek antimikrobiyal etkinin *Staphylococcus aureus* bakterisinde olduğu bulunmuştur (Popova ve ark., 2017).

Çalışmalarda daha çok bilinen suşlar kullanılmıştır. *Lactobacillus sp.* suşu için spesifik herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu bakteri için ağız florasında propolis için çalışmalar mevcuttur. Yapılan literatür çalışmalarında Brezilya’da çürük yapan bakterilere karşı yapılan antimikrobiyal deney sonucunda Brezilya propolisleri 14 gün boyunca etanolik ekstrakt içinde bekletilmiştir. Antimikrobiyal için disk difüzyon yöntemi kullanılmış ve minimum inhibisyon için sıvı dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus casei* için her dozda ölüm elde edilmiştir (Luca ve ark., 2014).

Polonya’ da yapılan bir çalışmada etanollü ekstraktlar elde edilmiştir. Bakteri suşu olarak *Streptococci mutans* ve *Lactobacillus sp.* kullanılmıştır. Minimum inhibisyon oranı sıvı dilüsyon yöntemiyle elde edilmiştir. Bunu sonucunda en yüksek antimikrobiyal etkinin *Streptococci mutans*’ da olduğu bulunmuştur (Dziedzic ve ark., 2013).

Pakistan’da yapılan bir başka çalışmada Bakht ve arkadaşları *Allium cepa* bitkisinin gram pozitif, gram negatiflere ve mantarlara karşı antimikrobiyal etkisini farklı çözücülerde çözerek etkiyi belirlemeye çalışmışlardır. Etanollü ekstraktı hazırlamak için bilinen yöntemi bizimde tercih ettiğimiz yöntemi kullanmışlardır. Kuruttukları soğan bitkisini etanolle karıştırdıktan sonra 6 gün boyunca beklemişlerdir. Filtrelenen etanolik çözelti döner buharlaştırıcı da kurutulmuştur. Kullanacakları diğer çözeltiler ise kloroform, ham etanol ekstraktı, petrol eteri, etil asetat, butanol ve su çözeltilerini kullanmışlardır. Antimikrobiyal etki için çalışmamızda sıvı mikrodilüsyon tekniğini tercih ettik. Bakht ve arkadaşları ise antimikrobiyal etki için disk difüzyon yöntemini tercih etmişlerdir. Mikroorganizma olarak *Bacillus subtilis*, *Erwinia carotovora*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* mantar olarak ise *Candida albicans* seçilmiştir. Sonuç olarak

Escherichia coli etil asetat ve kloroforma karşı duyarlıdır. Petrol eteri, bütanol, etanol'de herhangi bir etki söz konusu değildir. *Klebsiella pneumoniae* Petrol eteri ve etil asetata karşı duyarlıdır. Etanol çözeltisi için herhangi bir etkisi yoktur. *Pseudomonas aeruginosa* sadece etil asetata karşı duyarlıdır. *Staphylococcus aureus* petrol eteri, etil asetata ve kloroform'a karşı duyarlıdır. Sonuçlar bizi de destekler niteliktedir. Kullandığımız bakteriler arasında olan bu dört bakteri bizim etanolik karışımımızda burada olduğu gibi herhangi bir etki göstermemiştir (Bakht ve ark., 2014).

Hindistan'da Raht ve arkadaşının ortak çalışmasında Sum Hospital'de yatan hastalardan izole edilen 9 bakterinin 26 farklı tür farklı Hint baharatının metanolik olarak ekstrakte edilmesi sonucunda üriner sistemde enfeksiyona neden olan ilaca karşı dirençli bakterilerin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Metanolik ekstrakt yöntemi olarak bizimle aynı yöntemi tercih etmişlerdir. Antimikrobiyal test için ise disk difüzyon yöntemini kullanmışlardır. Farklı oranlarda hazırlanan metanolik ekstraktlarda soğan için en yüksek azalma oranını *Staphylococcus aureus*'ta, *Pseudomonas aeruginosa*'da ise hiç azalma olmadığını bildirmişlerdir. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* zonları birbirine çok yakındır. (Rath and Padhy, 2014). Soğan için bizim çalışmamızı destekler niteliktedir çünkü ilaca karşı dirençli olduklarından ve klinik suşu olduklarından dolayı oluşan zonlar birbirine yakın değer aralıklarındadır.

Lactobacillus sp. suşu için bağırsak florası deneyi tercih edilmiştir. Pakistan' da yapılan bir çalışmada Rahman ve arkadaşları Broiler civcivlerin bağırsak mikroflorasını incelemişlerdir. İki suş *Lactobacillus sp.* ve *Streptococcus mutans* ve *Escherichia coli* üzerinde çalışmışlardır. Civcivleri dört gruba A, B, C, D olmak üzere ayırmışlardır. Belirli oranlarda *Allium cepa* bitkisini yemlere kattıklarında civcivlerin kilolarında artış sağlanmış. Bağırsak florası histomorfoloji ile incelendiğinde yüzeyinde *Escherichia coli* azalmış. *Lactobacillus* ve *Streptococcus mutans* artmıştır (Rahman ve ark., 2017).

Süleyman Demirel Üniversitesi'nde Özçelik'in yaptığı çalışmada farklı dört yöre Amasya, Elazığ, Erzincan ve Tokat illerinden temin ettiği *Allium cepa* bitkisinin içerisinde yer alan antimikrobiyal ajanlardan biri olan fitonsid'in etkisi üzerine çalışmıştır. Bitki fitonsid maddesini böceklere maruz kaldığında kendini korumak amacıyla salgılamaktadır. Mikroorganizma olarak *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei* kullanmıştır. Deneylelerinde yöntem

olarak disk difüzyon yöntemi kullanmıştır. 36 saat süreyle bekletilen bakterilerde agarın üzerinde oluşturduğu zona göre en düşük antimikrobiyal etkinin Elazığ yöresinden elde edilen örnektedir. Araştırmacı bunun sebebi farklı yetiştirilme ve coğrafik koşullara bağlamıştır (Özçelik, 1986).

Mısır'da Zohri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Allium cepa* L. bitkisinin yağı kullanılarak antimikrobiyal, antidermatit ve antitoksik etkileri incelenmiştir. Çalışma için disk difüzyon yöntemini tercih etmişlerdir. 8 farklı bakteri türü gram pozitif ve gram negatif olarak ayrılmıştır. Çalışmamızla ortak olarak *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* kullanmışlardır. Gram negatif sınıfında olmasına rağmen *Klebsiella pneumoniae* pozitif etki göstermiştir. *Escherichia coli* etki göstermemiştir. *Staphylococcus aureus* olumlu etki göstermiştir. Araştırmacılarda deneyin sonucu olarak gram pozitif bakterilerin gram negatif bakterilere oranla daha duyarlı olduğu sonucuna varmışlardır (Zohri ve ark., 1995).

Mnayer ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 6 farklı *Allium* cinsinin (*Allium sativum*, *Allium cepa*, *Allium tuberosum*, *Allium ascalonicum*, *Allium schoenoprasum*, *Allium porrum*) bitki yağının kimyasal kompozisyonları ve antimikrobiyal ve antioksidant özellikleri incelenmiştir. Antimikrobiyal test deneyleri için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* bakterileri soğan için en iyi sonucu vermiştir. *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni* etki göstermemiştir (Mnayer ve ark., 2014).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak:

1. Metanollü propolis konsantrasyonlarında Mcf-7 hücre hattı için 0.2 ve 0.1 mg/ml konsantrasyonları en yoğun dozda hücre canlılığında azalma gösterirken 0.05 mg/ml konsantrasyon bütün dozlarında hücre canlılığı net bir azalma göstermiştir.

2. Metanollü soğan konsantrasyonlarında Mcf-7 hücre hattı için 0.01 ve 0.002 mg/ml konsantrasyonlarının hepsinde hücre canlılığında azalma gözlenmiştir.

3. Etanollü propolis konsantrasyonlarında Mcf-7 hücre hattı için 0.02 ve 0.004 mg/ml her konsantrasyonunda %20 oranında azalma vardır.

4. Etanollü soğan konsantrasyonlarında Mcf-7 hücre hattı için 0.02 mg/ml için 0.001 ve 0.005 mg/ml konsantrasyonlarında ve 0.004 mg/ml konsantrasyonu için ise 0.002 ve 0.001 mg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığında net bir azalma görülmüştür.

5. *Escherichia coli*, *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Kliebsiella pneumoniae* için soğan ve propolis ekstraktlarını metanollü, metanol LB, etanollü olarak çalıştığımızda propolisin metanollü ekstraktları için 0.2, 0.1, 0.05 mg/ml konsantrasyonlarını kullandığımızda *Lactobacillus sp.*, *Staphylococcus aureus* ve *Kliebsiella pneumoniae* için metanollü çalışmamızda 0.2 mg/ml dozu için 0.025 mg/ml'de ölüm görülmüştür. Bu ölümün metanol kaynaklı olduğu düşünüldüğünden metanol LB ile seyreltildiğinde ve etanolle çalışıldığında da net bir antimikrobiyal etkiye rastlanılmamıştır.

7. KAYNAKLAR

Rieter PT. (2004).The biology of cancer Genetics Seminars Oncology Nursing . 20:145-54.

Murray AW. (2004).Recycling the cell cycle: cyclins revisited.Cell.116:221-234.

Nigg EA.(1995).Cyclin-dependent protein kinases: key regulators of the eukaryotic cell cycle.Bioessays .17(6):471-80.

Scriver CR . Beaudet AL, Sly WS., Valle D.(2001). The Metabolics & Molecular Bases of Inherited Diseaes Mc-Graw Hill.613-74.

Zetterberg A,EngstromW, Larsson O. (1982). Growth activation of resting cells: induction of balanced and imbalanced growth. Ann N Y Acad Sci .397:130-147.

Pediconi N.Ianari A.Costanzo A. Belloni L.Gallo R. (2003). Differential regulation of E2F1 apoptotic target genes in response to DNA damage.Nat Cell Biol.6:552-8.

Karp G.(2005).Cell and Molecular Biology: Concepts and Experiments (4 ed.). Hoboken, NJ: John Wiley and Sons.598-599.

Zhang H.(2007).Molecular signaling and genetic pathways of senescence: Its role in tumorigenesis and aging.J Cell Physiol.210 (3):567-74.Review.

Park BH, Vogelstein B.(2003). Tumor-suppressor genes. In: Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al, ed: Cancer Medicine. 6th ed.Hamilton, Ontario,BC : Decker Inc.87-105.

Hahn WC.(2003).Role of telomeres and telomerase in the pathogenesis of human cancer.J Clin Oncol.21:2034-43.

Korkmaz A, Kurt B, Yıldırım I, Basal S, Topal T, Sadir S et al.(2008).Effects of poly(ADP- ribose) polymerase inhibition in bladder damage caused by cyclophosphamide in rats. Exp Biol Med (Maywood) .233:338-43.

Okun I, Balakin KV, Tkachenko SE, Ivachtchenko AV.(2008). Caspase activity modulators as anticancer agents. *Anticancer Agents Med Chem*.8;322-341.

Topuz E, Aydın A, Dinçer M.(2003).Meme Kanseri.Nobel tıp Kitapevi.

Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, organlara göre kanser sıklığının dağılımı ve kadınlarda en sık görülen 10 kanser, <http://www.saglik.gov.tr.2001>.

World Cancer Research Fund / American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition , Physical Activity, and the Prevention of Cancer : a Global Perspective . Washington DC: AICR, 2007.

Rose DP, Davis LV. (2010).Interaction between menopausal status and obesity in affecting breast cancer risk. *Maturitas*.66(1):33-38.

Brennan SF, Cantwell MM, Cardwell CR, Velentzis LS, Woodside JV.(2010). Dietary patterns and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*.91(5)1294-1302.

Howe GR, Hirohata T , Hislop TG, Isovich JM, Yuan JM, Katsouyanni K et al.(1990). Dietary Factors and Risk of Breast Cancer : Combined Analysis of 12 Case-Control Studies. *Journal of the National Cancer Institute* 82(7):561-569.

Ronco AL, Stefani E, Stoll M.(2010). Hormonal and metabolic modulation through nutrition: Toward a primary prevention of breast cancer: *The Breast* 19(5):322332.

Sieri S, Pala V, Brighenti F, Agnoli C, Grioni S, Berrino F et al.(2013).High glycemic diet and breast cancer occurrence in the Italian EPIC cohort. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* .23(7):628-34.

Willet W.(2008). Nutrition and Cancer: The Search Continues.*Nutrition and Cancer* 60(5):557-9.

Aydın M.(2010). Endodontik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları,313-385.

Güven K, Kıvanç M, Sarıözlü N, Demirel R, Mutlu, M.B, Yılmaz M.(2011). T.C Anadolu Üniversitesi Yayını Nisan 1961:1041.

Şahin İ.(1999). Genel Mikrobiyoloji. Bursa.

Kayser, F. H. ; Bienz, K. A. ; Eckert, J. ; Zinkernagel, R. M.(2002).Tıbbi Mikrobiyoloji, Nobel Tıp Kitap Evi.

Temelli S. Gıda Zehirlenmesine Neden Olan E.coli O157:H7 ve Önemi. Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med;2002:(20) 133-138. 27. Tunail, N. ; Köşker, Ö.(1989). Süt Mikrobiyolojisi, A. Ü. Ziraat Fak., Ankara.

Yetişmeyen, A.(1995).Süt Teknolojisi, A. Ü. Ziraat Fak., Ankara.

Arda, M.(1985).Genel Bakteriyoloji, A. Ü. Vet. Fak., Ankara.

Milli Eğitim Bakanlığı.Gıda Teknolojisi.(2006). Megep (Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi). Ankara 14-18.

Küçükçetin A, Milci S.(2008). *Staphylococcus aureus* ile Kontamine olan Peynirlerden Kaynaklanan Gıda Zehirlenmeleri. Gıda Dergisi 33:(3) : 129-135.

Ankara Üniversitesi.(2005). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları.Gıda Mühendisliği Bölümü.

Saran B, Karahan Z.C.(2010). Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış. Turk Uroloji Sempozyumu 1: 216-20.

Şen A, Halkman A.K.(2006). Çiğ Sütte *Pseudomonas aeruginosa* Sayılması için Yöntem Modifikasyonları Üzerine Çalışmalar. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi (04): 02: 2-13.

Bilgin Y.(2006). *Escherichia coli* , *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus aureus* suşlarında çeşitli aminoglikozidlerin duyarlılıklarının araştırılması Uzmanlık Tezi.

Aladağ M.O, Durak Y.(2007). Üriner Sistem Enfeksiyonlarından İzole Edilen *Klebsiella pneumoniae*'ların Bazı Antibiyotiklere Duyarlılıkları. Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi(2):4:41-49.

Aydoğan H, Başustaoğlu A.(2000). Nozokomiyal Patojen Olarak *Klebsiella* Türlerinin Mikrobiyolojik, Klinik ve Epidemiyolojik Özellikleri. Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Erdoğan A.E, Everest A.(2013). Antimikrobiyal Ajan Olarak Bitki Bileşenleri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 6 (2): 27-32.

Bağlan HP.(2003). Bakteri Yapısı, Ankara Üniversitesi,Hematoloji Enstitüsü Eylül.

Uymaz B.(2010).Probiyotikler ve Kullanım Alanları.Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bölümleri Dergisi 16(1):95-104.

Özkaya F.D.(2008).Cömert M.Gıda Zehirlenmelerinde etkili faktörler. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi 65 (3): 149-158

Telli A.E, Dogruer Y.(2013). Gıda Kaynaklı Bakteriyel Patojenlerde Patojeniteye Genel Bakış Dicle Üniv Vet Fak Derg 2(4): 51-59

Atik A, Gümüş T.(2017). Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları. Akademik Gıda 15(1): 60-65.

Doğan N, Hayoğlu H.(2012). Propolis ve Kullanım Alanları. HR.Ü.Z.F. Dergisi. 16(3): 39-48

Çelemlı Ö.G, Özkırım A.(2011). Balarılarında gelen sağlık:Propolis. Bilim ve Teknik Dergisi Eylül 526.

Kumova U, Korkmaz A, Avcı B.C, Ceyran G.(2002). Önemli bir arı ürünü propolis. Uludağ Bee Journal Mayıs.

Yılmaz İ.(2010). Antioksidan İçeren Bazı Gıdalar ve Oksidatif Stres. İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya 17:(2):143-153.

Kahraman A, Serteser M, Köken T.(2002). Flavonoidler. Kocatepe Tıp Dergisi 3:01-08.

Özan Ü, Özan F, Er K.(2015). Oral Mikroorganizmalara Karşı propolisin Antmikrobiyal Etkinliği. Acta Odontol Turc 32(1):36-41.

Yılmaz L, Yılsay T.Ö, Bayizit A.A.(2004). Propolisin kimyasal bileşimi, biyolojik özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkisi (6):34-38.

Seven İ, Aksu T, Seven P.T.(2007). Propolis ve Hayvan Beslenmede Kullanımı. YYÜ Vet Fak Derg 18(2):79-84

Brewster, J.L.(1995). Onions and Other Vegetable Alliums, Crop Production Science Horticulture 3, Cab International, Cambridge, UK, 0851987532 -236pp.

Dinçoğlu A.H, Temamoğulları F.K.(2010). Soğanın Farmakolojik ve Toksikolojik Etkileri. e-Journal of New World Sciences Academy (5): 1: 31-35

Upadhyay R.K.(2016). Nutraceutical, pharmaceutical and therapeutic uses of *Allium cepa*: A Review. International Journal of Green Pharmacy Jan-Mar 10: (1)-S46

Milli Eğitim Bakanlığı.(2008). Bahçecilik Soğan Yetiştiriciliği. Megep (Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi). Ankara 3-8.

Çoşkun T.(2005). Fonksiyonel Besinlerin Sağlığımız Üzerine Etkileri. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 48: 69-84.

Yünlü S, Kır E.(2016). Soğan (*Allium cepa*) ve Sarımsaktaki (*Allium Sativum*) Bazı Fenolik Bileşiklerin HPLC Yöntemiyle Tayin Edilmesi.Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi (20):3:566-574.

İrkin R, Korukoğlu M.(2007). Bazı Allium Sebzelerinin Antifungal Etkileri. e-Journal of New World Sciences Academy . Natural and Applied Sciences 3:(3):455-464.

Faydaoğlu E, Sürücüoğlu M.S.(2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi 11: (1): 52 – 67.

Darzynkiewicz Z, Bruno S, Del Bino G, Gorczyca W, Hotz MA, Lassota P, Traganos F.(1992). Features of apoptotic cells measured by flow cytometry. Cytometry.13(8):795-808. Review.

Yücel B, Topal E, Akçiçek E, Kösoğlu M.(2014). Propolisin İnsan Sağlığına Etkileri. Anadolu Journal of AARI 24:(2):41-49.

Silici S.(2008). Farklı botanik orjine sahip propolis örneklerinde biyolojik olarak aktif bileşiklerin belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 24: (1-2):120 - 128.

Polat G, Koçan D.(2006). Propolis ve Antimikrobiyel Etkisi. Türkiye 9. Gıda Kongresi.

Turan İ, Demir S, Mısır S, Kılınç K, Menteşe A, Aliyazıcıoğlu Y, Değer O.(2015). Cytotoxic effect of Turkish Propolis on Liver, Colon, Breast, Cervix and Prostate Cancer Cell Lines. Tropical Journal of Pharmaceutical Research May 14:(5): 777-782.

Uğurlu D.(2013).Effects of Biological compound Turkish Propolis Extract on Breast Cancer Cell .Yüksek Lisans Tezi. Ağustos.

Sakallı E.(2010). Comparative Effects of Emodin on Biological Activities of Mcf-7 and Mda-231 Cell Lines. Yüksek Lisans Bitirme Tezi.

Saygılı N, Kahraman Ö.T, Kısakesen H.İ, Yılmaz E, Aydoğan H.Y, Bilgiç S, Öztürk T, Seyhan F.M, Eronat A.P, Tüzüner M.B, Öztürk O.(2012). Farklı Coğrafik Orijinli Propolislerin Mcf-7 Meme Kanseri Hücrelerindeki Mirna Ekspresyon Profiline Etkileri. Sciendirect Journal. Dec.

Zammit J.E, Theuma B.K, Darmanin S, Muraglia M, Podesta C.T.M, Buhagiar J.A, Agius C.J, Adami Z.M, Micallef M, Franchini C, Wismayer S.P.(2013). Totarol Content and Cytotoxicity Varies Significantly in Different Types of Propolis. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (4):3:1047.

Popova M, Giannopoulou E, Wozniak K.S, Graikou K, Widelski, Bankova V, Kalofonos H, Sivolapenka G, Beben G.K, Antosiewicz B, Chinou J.(2017). Characterization and Biological Evaluation of Propolis from Poland. Molecules Journal 22:1159.

Xuan H, Li Z, Yan H, Sang Q, Wang K, He Q, Wang Y, Hu F .(2014). Antitumor activity of Chinese propolis in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 11.

Hala A.S.M, Wafa F.M, El-Sayed F.S.A, Sara A.A.(2016). A Comparative Study on Propolis and Pollen Extracts: Chemical Profile Analysis, Antioxidant and Anticancer Activity. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 5(3): 397-414.

Yenisey Ç ve ark. Meme ve Kolon Kanseri Hücreleri ile Oluşan Anjiyogenezin Propolis Yoluyla İnhibisyonu. <http://www.aribilim.com/Prof-Cigdem-Yenisey-Propolis-Cape-Meme-Kolon-Kanseri-Sunum.pdf> 2010.

Karabekir G, Demircan G, Özdaş Ş.(2017). Resveratrolün MCF-7 hücre soyunda apoptotik etkinin araştırılması. *FNG & Bilim Tıp Dergisi* 3(1):27-34.

Galeone C, Pelucchi C, Levi F, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Giacosa A, Vecchia L.C.(2006). Onion and Garlic use and human cancer. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84:1027–32.

Gomaa A.E.(2017). Antimicrobial, antioxidant and antitumor activities of silver nanoparticles synthesized by *Allium cepa* extract: A green approach. *Journal of Food Engineering and Biotechnology* 15:49-57.

Azadi G.H, Riazi H.G, Ghaffari M.S, Ahmadian S, Khalife J.T.(2009). Effects of *Allium hirtifolium* (Iranian shallot) and its allicin on microtubule and cancer cell lines. *African Journal of Biotechnology* (19):8:5030-5037.

Sak K.(2017). Site-specific Anticancer effect of Dietary Flavonoid Quercetin. *Nutrition Cancer* 66:177-93.

Ahmad R, Ahmad N, Naqvi A.A, Shehzad A, Al-Ghamdi M.S.(2017). Role of Traditional Islamic and Arabic plants in Cancer Therapy. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* (7):195-204.

Aksoy Z, Dığrak M.(2006). Bingöl Yöresinde Toplanan Bal ve Propolisin Antimikrobiyal Etkisi Üzerinde in vitro Araştırmalar. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi* 18:(4):471-478.

Alan Y, Atalan E, Erbil N, Bakır O, Orman Z, Kanik P.(2014). Muş ve Bitlis Yöresinde Toplanan Bal ve Propolisin Antimikrobiyal Aktivitesinin Araştırılması. *Muş Alparslan University Journal of Science.* 2: (1),:221-229.

Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S.(1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J. Ethnopharmacol 64: 235-40.

Deniz A.(2012). Konya'da Tüketilen Bazı Balların Antimikrobiyal Özelliklerinin İncelenmesi. Selçuk Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi .

Kaya G.A, Özbilge H, Albayrak S.(2012). Kayseri Propolisinin Etanolik Ekstraktının Antimikrobiyal Aktivitesi. Selçuk Tıp Derg 28(4):209-212.

Silici S, Kaftanoğlu O.(2003). Antimicrobial Analysis of Propolis Samples from Different Regions in Turkey. Uludag Bee Journal August .

Turnia I, Nongkhilaw W.N.F, Joshi R.S, Prasad B.S.(2015). Antibacterial and Antitumor Activity of Methanolic Extract of Propolis from Meghalaya. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (4):11:1809-1821.

Luca D.PM, Franca J.R, Macedo F.F.A.F, Grenho L, Cortes E.M, Faraco G.A.A, Moreira N.A, Santos R.V.(2014). Propolis Varnish: Antimicrobial Properties against Cariogenic Bacteria, Cytotoxicity, and Sustained-Release Profile. BioMed Research International Volume 6.

Dziedzic A, Kubina R, Wojtyczka D.R, Dzik K.B.A, Tanasiewicz M, Morawiec T.(2013). The Antibacterial Effect of Ethanol Extract of Polish Propolis on Mutans Streptococci and Lactobacilli Isolated from Saliva 12.

Bakht J, Khan S, Shafi M.(2014). In Vitro antimicrobial activity of *Allium cepa* (dry bulbs) against Gram positive and Gram negative bacteria and fungi. Pak. J. Pharm. Sci (27):139-145.

Rath S, Padhy N.R.(2014). Monitoring in vitro antibacterial efficacy of 26 Indian spices against multidrug resistant urinary tract. Integr Med Res 133-141.

Rahman S, Khan S, Chand N, Sadique U, Khan U.R.(2017). In vivo effects of *Allium cepa* L. gut microflora and intestinal histomorphology in broiler (9):119:446-450.

Özçelik S.(1986). Farklı Yörelere Alınan (*Allium cepa L.*) Örneklerindeki Antimikrobiyal Etkinin (Fitonsid) Bakterisit Etkilerinin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Dergisi (1):11:42-46.

Zohril N.A, Gawadl A.K, Saber S.(1985). Antibacterial, antidermatophytic and antitoxic activities of onion (*Allium cepa L.*) oil. Microbiol. Res 150:167 -172.

Mnayer D, Tixier F.S.A, Petitcolas E, Hamieh T, Nehme N, Ferrant C, Fernandez X, Chemat F.(2014). Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Six Essentials Oils from the Alliaceae Family. Molecules Journal 19:35-53.

İnternet kaynakları:

Şekil 1: <http://bilimderyasi.com/fen-bilimleri/hucre-dongusu-ve-bolunmesi/>

Şekil 2: <http://time.com/4520903/new-frontiers-in-breast-cancer/>

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Burcu BALKIŞ

Doğum Yeri ve Tarihi : İstanbul 23/12/1990

Yabancı Dili : İngilizce

İletişim (Telefon/e-posta) : burcubalkistr90@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl) Lise : TEB Ataşehir Lisesi 2005-2009

Lisans : Pamukkale Üniversitesi - Biyoloji Bölümü 2009-2014 Bölüm İkindiliği

Yüksek Lisans : Üsküdar Üniversitesi- Moleküler Biyoloji 2015-2017