TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNEK, KOYUN, KEÇİ ve EŞEK KOLOSTRUMUNUN A549 ve MCF-7 FARKLI KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖRAL ETKİNLİĞİ

İlhan SABANCILAR

DOKTORA TEZİ

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet Hanifi DURAK

DİYARBAKIR – 2022

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İNEK, KOYUN, KEÇİ ve EŞEK KOLOSTRUMUNUN A549 ve MCF-7 FARKLI KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİTÜMÖRAL ETKİNLİĞİ

İlhan SABANCILAR

DOKTORA TEZİ

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet Hanifi DURAK

DİYARBAKIR – 2022

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı Doktora öğrencisi İlhan SABANCILAR'ın hazırladığı "**İnek, Koyun, Keçi ve Eşek Kolostrumunun A549 ve MCF-7 Farklı Kanser Hücreleri Üzerindeki Antitümöral Etkinliği**" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Mehmet Hanifi DURAK _____

Jüri Üyeleri		İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Sema GÜRGÖZE	_____
Üye	Prof. Dr. Fulya BENZER	_____
Üye	Doç. Dr. Mehmet Hanifi DURAK	_____
Üye	Doç. Dr. İbrahim KAPLAN	_____
Üye	Doç. Dr. Kıvanç İRAK	_____

Tarih: 24/06/2022

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …./…/20.. tarih ve..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

…../…../……

Prof. Dr. **Mahmut BALKAN**

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

24/06/2022

İlhan SABANCILAR

İmza

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez hazırlama sürecinde çalışmalarımın yönlendirilmesinde bana desteklerini esirgemeyen çok değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Mehmet Hanifi DURAK'a,

Tezimin her aşamasında, tezimin zenginleştirilmesi hususunda destek olan, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, yol gösteren ikinci tez danışmanım olan Sayın Doç. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN'a, anabilim dalının saygıdeğer öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Sema GÜRGÖZE'ye, lisansüstü eğitimim boyunca her konuda destek olan Sayın Prof. Dr. Gülten TOPRAK'a

Tezimin laboratuvar çalışmalarını yürütme sürecinde Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi kapılarını açan Sayın Doç. Dr. Duygu Neval SAYIN İPEK'e ve Sayın Doç. Dr. Sevgi İrtegün KANDEMİR'e, tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Deniz Evrim KAVAK ve Dr. Öğr. Üyesi Uğur ŞEKER'e, yüksek lisansımdan bu yana sürekli yanımda olan kıymetli arkadaşım Yavuz Servet BAYCAN'a, tez çalışmamda yönlendiren ve destekleyen Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim. Uzun soluklu süreçte gösterdikleri sabır için sevgili eşim Fatoş SABANCILAR'a ve aileme teşekkür ederim. Tez çalışmalarını yürütme sürecinde yeterince ilgilenemediğim canımdan çok sevdiğim biricik oğlum Muhammed Enes'in temiz kalbinden öpüyorum.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından Veteriner 20.002 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN ..... **I**
TEŞEKKÜR ..... **II**
İÇİNDEKİLER ..... **III**
KISALTMALAR ve SİMGELER ..... **VIII**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **IX**
RESİMLER DİZİNİ ..... **XII**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **XIII**
1. ÖZETLER **1**
1.1. Türkçe Özet 1
1.2. Abstract 2
2. GİRİŞ **4**
2.1. Amaç ve Kapsam 4
3. GENEL BİLGİLER **6**
3.1. Kanser 6
3.1.1. Hücre döngüsü ve kanser oluşumu 6
3.2. Kansere Neden Olan Genler 8
3.2.1. Onkogenler 8
3.2.2. Tümör baskılayıcı gen tanımları 9
3.2.2.1. Tümör nekroz faktörü α (TNF-α) 10
3.2.2.2. İnterlökin-2 (IL-2) sitokin 10
3.2.2.3. İnterlökin-6 (IL-6) sitokin 10
3.3. Apoptozis 11
3.4. Apoptozda Meydana Gelen Biyokimyasal Değişiklikler 11
3.5. Meme Kanseri 12
3.5.1. Meme kanseri hücre hattı (MCF-7) 14
3.6. Akciğer Kanseri 14
3.6.1. Akciğer kanseri hücre hattı (A549) 15
3.7. Sütle İlgili Genel Bilgiler 16
3.7.1. Sütteki proteinler 16
3.7.1.1. Sütün protein içeriği ve bileşenleri 17

3.7.2. Sütte bulunan mineral, vitamin ve antioksidanlar 17
3.8. Kolostrum ile İlgili Genel Bilgiler.....18
3.8.1. Kolostrum protein bileşenleri 20
3.8.2. Kolostrumdaki biyoaktif bileşenler.....21
3.8.2.1. İmmünoglobulinler 21
3.8.2.2. Laktoferrin.....22
3.8.2.3. Lizozim.....23
3.8.2.4. Laktoperoksidaz 23
3.8.3. İnek kolostrumu ve bileşenleri 23
3.8.4. Eşek kolostrumu ve bileşenleri.....24
3.8.5. Koyun, keçi kolostrumu ve bileşenleri.....24
3.9. MTT Hücre Canlılık Testi.....24
4. GEREÇ ve YÖNTEM 26
4.1. Gereç 26
4.1.1. Cihazlar ve malzemeler.....26
4.1.2. Kimyasal ve solüsyonlar 27
4.2. Yöntem.....28
4.2.1. Kolostrum örneklerinin toplanması.....28
4.2.2. Kolostrum örneklerinin fraksiyonlarına ayrılması 28
4.2.2.1. Whey protein eldesi 29
4.2.2.2. Kazein protein eldesi 29
4.2.2.3. Whey proteinin 30 kda membran filtrasyonu ile fraksiyonlarına ayrılması 29
4.2.3. Whey ve kazein proteinlerini yıkama işlemi 29
4.2.4. Whey ve kazein proteinlerinin steril edilmesi 30
4.2.4.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısının belirlenmesi...30
4.2.4.2. Koliform grubu bakteri sayısının belirlenmesi yöntemi 30
4.2.5. Kolostrum örneklerinin liyofilizasyonu 31
4.2.6. Protein konsantrasyonlarının belirlenmesi.....31
4.2.7. Whey ve kazein proteinlerinin elektroforezi 32
4.2.8. Hücre hatlarının hazırlanması.....33
4.2.9. Mcf-7 ve A549 hücrelerin pasajlanması 35

4.2.10. Mcf-7 ve A549 hücrelerin dondurulması 35
4.2.11. Mcf-7 ve A549 hücrelerin optimize edilmesi 36
4.2.12. Hücre sayısının belirlenmesi 36
4.2.13. IL-2, IL-6 ve TNF-α sitokin düzeylerinin belirlenmesi 37
4.2.14. Test protokolü 38
4.3. İstatistik Analiz 38
5. BULGULAR 40
5.1. Whey ve Kazeinin SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforez) Sonucu 40
5.2. A549 ve MCF-7 Hücre Hatlarında MTT Hücre Canlılık Testi Bulguları 40
5.2.1. Eşek kazein A549 hücre canlılık oranı 57
5.2.2. Eşek kazein MCF-7 hücre canlılık oranı 57
5.2.3. Eşek whey A549 hücre canlılık oranı 58
5.2.4. Eşek whey MCF-7 hücre canlılık oranı 59
5.2.5. Eşek whey 30kda A549 hücre canlılık oranı 60
5.2.6. Eşek whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı 61
5.2.7. İnek kazein A549 hücre canlılık oranı 62
5.2.8. İnek kazein MCF-7 hücre canlılık oranı 63
5.2.9. İnek whey A549 hücre canlılık oranı 64
5.2.10. İnek whey MCF-7 hücre canlılık oranı 65
5.2.11. İnek whey 30kda A549 hücre canlılık oranı 66
5.2.12. İnek whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı 67
5.2.13. Keçi kazein A549 hücre canlılık oranı 68
5.2.14. Keçi kazein MCF-7 hücre canlılık oranı 69
5.2.15. Keçi whey A549 hücre canlılık oranı 70
5.2.16. Keçi whey MCF-7 hücre canlılık oranı 71
5.2.17. Keçi whey 30kda A549 hücre canlılık oranı 72
5.2.18. Keçi whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı 73
5.2.19. Koyun kazein A549 hücre canlılık oranı 74
5.2.20. Koyun kazein MCF-7 hücre canlılık oranı 75
5.2.21. Koyun whey A549 hücre canlılık oranı 76
5.2.22. Koyun whey MCF-7 hücre canlılık oranı 77

5.2.23. Koyun whey 30kda A549 hücre canlılık oranı 78
5.2.24. Koyun whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı 79

5.3. A549 ve MCF-7 Kanserli Hücrelerin MTT Değerlerinin İstatistiksel Analizleri 80
5.3.1. Eşek kazein A549 istatistiksel analiz 80
5.3.2. Eşek kazein MCF-7 istatistiksel analiz 81
5.3.3. Eşek whey A549 istatistiksel analiz 82
5.3.4. Eşek whey MCF-7 istatistiksel analiz 83
5.3.5. Eşek whey 30kda A549 istatistiksel analiz 84
5.3.6. Eşek whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz 84
5.3.7. İnek kazein A549 istatistiksel analiz 85
5.3.8. İnek kazein MCF-7 istatistiksel analiz 86
5.3.9. İnek whey A549 istatistiksel analiz 87
5.3.10. İnek whey MCF-7 istatistiksel analiz 88
5.3.11. İnek whey 30kda A549 istatistiksel analiz 89
5.3.12. İnek whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz 90
5.3.13. Keçi kazein A549 istatistiksel analiz 90
5.3.14. Keçi kazein MCF-7 istatistiksel analiz 91
5.3.15. Keçi whey A549 istatistiksel analiz 92
5.3.16. Keçi whey MCF-7 istatistiksel analiz 93
5.3.17. Keçi whey 30kda A549 istatistiksel analiz 93
5.3.18. Keçi whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz 94
5.3.19. Koyun kazein A549 istatistiksel analiz 95
5.3.20. Koyun kazein MCF-7 istatistiksel analiz 95
5.3.21. Koyun whey A549 istatistiksel analiz 96
5.3.22. Koyun whey MCF-7 istatistiksel analiz 97
5.3.23. Koyun whey 30kda A549 istatistiksel analiz 98
5.3.24. Koyun whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz 98
5.4. IL-2, IL-6 ve TNF-α Sitokin Düzeyleri 99
5.4.1. IL-2 sitokin düzeyi 99
5.4.2. IL-6 sitokin düzeyi 100
5.4.3. TNF-α Sitokin Düzeyi 100

6. TARTIŞMA 103
7. SONUÇ 110

8. KAYNAKLAR 111
9. EKLER 124
9.1. Özgeçmiş 124
9.2. Etik Kurul ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
9.3. Yayın 125

KISALTMALAR ve SİMGELER

%	: Yüzde
A549	: Akciğer Kanser Hücresi
cm^2	: Santimetrekare
CO_2	: Karbondioksit
EDTA	: Etilen Daimin Tetra Asetik Asit
ELISA	: Enzyme Linked İmmuno Sorbant Assay
MCF-7	: Meme Kanser Hücresi
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
nm	: Nanometre
^oC	: Santigrat Derece
PBS	: Phosphate Buffered Saline
SDS	: Sodyum Dodesil Sulfat
UV	: Ultraviole
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
α	: Alfa
β	: Beta
µg	: Mikrogram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Apoptotik yolaklar 12
Şekil 2. MTT'nin Formazan kristallerine dönüşümü 25
Şekil 3. SDS-PAGE jelin görüntüsü. .....**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
Şekil 4. Eşek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları 42
Şekil 5. Eşek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları 44
Şekil 6. İnek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları 46
Şekil 7. İnek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları 48
Şekil 8. Keçi kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları 50
Şekil 9. Keçi kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları 52
Şekil 10. Koyun kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları..... 54
Şekil 11. Koyun kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları..... 56
Şekil 12. Eşek kazeinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 57
Şekil 13. Eşek kazeinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 58
Şekil 14. Eşek whey proteinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları..... 59
Şekil 15. Eşek whey proteinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları..... 60

Şekil 16. Eşek whey 30kda proteinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 61
Şekil 17. Eşek whey 30kda proteinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 62
Şekil 18. İnek kazeinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 63
Şekil 19. İnek kazeinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 64
Şekil 20. İnek whey A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 65
Şekil 21. İnek whey MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 66
Şekil 22. İnek whey 30kda A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları.....67
Şekil 23. İnek whey 30kda MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları.....68
Şekil 24. Keçi kazein A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 69
Şekil 25. Keçi kazein MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 70
Şekil 26. Keçi whey A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 71
Şekil 27. Keçi whey MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 72
Şekil 28. Keçi whey 30kda A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları.....73
Şekil 29. Keçi whey 30kda MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları.....74
Şekil 30. Koyun kazein A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 75
Şekil 31. Koyun kazein MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 76

Şekil 32. Koyun whey A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 77
Şekil 33. Koyun whey MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 78
Şekil 34. Koyun whey 30kda A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 79
Şekil 35. Koyun whey 30kda MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları 80
Şekil 36. IL-2, IL-6 ve TNF-α standart eğim çizimi 102

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 1. Numunelerin liyofilize edilmesi.....31
Resim 2. SDS-PAGE elektroforezi jel yürütme işlemi 33
Resim 3. Meme kanser hücresi (MCF-7), invert mikroskop 34
Resim 4. Akciğer kanser hücresi (A549), invert mikroskop.....35

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Onkogenler 9
Tablo 2. Tümör Baskılayıcı Genler 10
Tablo 3. Farklı türlerin süt bileşimi 18
Tablo 4. Farklı türlerde süt proteini içeriği 18
Tablo 5. Kolostrumda bulunan proteinler ve melokül ağırlıkları 21
Tablo 6. Eşek kazein A549 bulguları 81
Tablo 7. Eşek kazein MCF-7 bulguları 82
Tablo 8. Eşek whey A549 bulguları 83
Tablo 9. Eşek whey MCF-7 bulguları 83
Tablo 10. Eşek whey 30kda A549 bulguları 84
Tablo 11. Eşek whey 30kda MCF-7 bulguları 85
Tablo 12. İnek kazein A549 bulguları 86
Tablo 13. İnek kazein MCF-7 bulguları 87
Tablo 14. İnek whey A549 bulguları 88
Tablo 15. İnek whey MCF-7 bulguları 89
Tablo 16. İnek whey 30kda A549 bulguları 89
Tablo 17. İnek whey 30kda MCF-7 bulguları 90
Tablo 18. Keçi kazein A549 bulguları 91
Tablo 19. Keçi kazein MCF-7 bulguları 92
Tablo 20. Keçi whey A549 bulguları 92
Tablo 21. Keçi whey MCF-7 bulguları 93
Tablo 22. Keçi whey 30kda A549 bulguları 94
Tablo 23. Keçi whey 30kda MCF-7 bulguları 94
Tablo 24. Koyun kazein A549 bulguları 95
Tablo 25. Koyun kazein MCF-7 bulguları 96
Tablo 26. Koyun whey A549 bulguları 97
Tablo 27. Koyun whey MCF-7 bulguları 97
Tablo 28. Koyun whey 30kda A549 bulguları 98

Tablo 29. Koyun whey 30kda MCF-7 bulguları 99
Tablo 30. Farklı hayvan türlerindeki IL-2 düzeyleri.....100
Tablo 31. Farklı hayvan türlerindeki IL-6 düzeyleri.....100
Tablo 32. Farklı hayvan türlerindeki TNF-α düzeyleri.....101

1. ÖZETLER

İnek, Koyun, Keçi ve Eşek Kolostrumunun A549 ve MCF-7 Farklı Kanser Hücreleri Üzerindeki Antitümöral Etkinliği

Öğrencinin Adı ve Soyadı: İlhan SABANCILAR

Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Hanifi DURAK

2.Tez Danımanı: Prof. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN

Anabilim Dalı: Biyokimya A.D

1.1. Türkçe Özet

Amaç: Kolostrum, yavrunun dünyaya geldiği ilk bir ay süresince anneden alacağı antikorları/immünoglobülinleri içeren doğal bileşiktir. Bu çalışma ile inek, koyun, keçi ve eşek gibi farklı türlerin kolostrumlarından elde edilen whey ve kazein proteinlerinin insan akciğer kanser hücresi (A549) ve meme kanser hücresi (MCF-7) üzerindeki etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Kolostrumlar, whey ve kazein proteinleri olarak fraksiyonlarına ayrıldı. SDS-PAGE elektroforez ile bu proteinler belirlenip membran filtre ile steril edildi. Liyofilize edilen proteinlerin farklı konsantrasyonlarının antitümöral etkinlik düzeyleri hücreler üzerindeki MTT canlılık testi ile ölçülerek IC50 değerleri saptandı. Ayrıca kolostrumlardaki sitokin düzeyleri (IL-2, IL-6 ve TNF-α) ölçüldü.

Bulgular: Kolostrumdaki whey ve kazein proteinlerinin 6400 µg/ml ile başlayıp azalan seri dilüsyonları 24, 48 ve 72 saatlik süreler boyunca A549 ve MCF-7 hücreleriyle inkübe edildi. İnek whey MCF-7 hücreleriyle inkübe edildiğinde, hücre canlılık oranı: %37,06; IC50 değeri 3.144 µg/ml olarak saptandı. Eşek whey proteinlerinin MCF-7 hücre inkübasyonu sonucu hücre canlılık oranı % 16,64 ve IC50 değeri 3.424 µg/ml ($p<0.001$) olarak ölçüldü. Koyun kazeinin A549 hücreleriyle inkübasyonunda, hücre canlılık % 29,38 ve IC50 değeri 3.612 µg/ml olarak ölçülürken MCF-7 hücreleriyle inkübasyonunda hücre canlılık %37, IC50 3.383 µg/ml olarak saptandı.

Sonuç: İnek ve eşek whey proteini ile koyun kazein proteinlerinin A549 ve MCF-7 kanser hücre hatlarında antiproliferatif ve antikanserojen etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Kolostrum, A549, MCF-7, sitotoksisite, whey proteinleri, kazein.

Antitumoral Effectiveness of Cow, Sheep, Goat and Donkey Colostrum on A549 and MCF-7 Different Cancer Cells

Student's Surname and Name: SABANCILAR İlhan

Adviser of Thesis: Mehmet Hanifi DURAK Assoc. Dr.

2nd thesis advisor: Prof. Dr. Hüsnü Şahan GÜRAN

Department: Biyokimya A.D

1.2. Abstract

Aim: Colostrum is a natural compound containing antibodies/immunoglobulins that the offspring will receive from the mother during the first month of life. In this study, it was aimed to investigate the effectiveness of whey and casein proteins obtained from colostrum of different species such as cow, sheep, goat and donkey on human lung cancer cells (A549) and breast cancer cells (MCF7).

Material and Method: Colostrums were fractionated into whey and casein proteins. These proteins were determined by SDS-PAGE electrophoresis and sterilized with a membrane filter. Antitumoral activity levels of different concentrations of lyophilized proteins were measured by MTT viability test on cells and IC50 values were determined. In addition, cytokine levels (IL-2, IL-6 and TNF-α) in colostrums were measured.

Results: Serial dilutions of whey and casein proteins in colostrum starting with 6400 µg/ml were incubated with A549 and MCF-7 cells for 24, 48 and 72 hours. When cow whey proteins were incubated with MCF-7 cells, cell viability and IC50 values were determined as 37.06% and 3144 µg/ml, respectively. Cell viability and IC50 of donkey whey proteins after MCF-7 cell incubation were measured as 16.64% and 3424 µg/ML, respectively. In A549 cell incubation of sheep casein, cell viability was 29.38% and IC50 was 3612 µg/ml; while cell viability was 37% and IC50 was 3383 µg/ml in MCF-7 cell incubation of sheep casein.

Conclusion: It was concluded that cow and donkey whey and sheep casein proteins have antiproliferative and anticarcinogenic effects on A549 and MCF-7 cancer cell lines.

Key Words: Colostrum, A549, MCF-7, cytotoxicity, whey proteins, caseins

2. GİRİŞ

2.1. Amaç ve Kapsam

Kanser, bir organ veya dokulardaki hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla gelişen kötü huylu (malign) ya da iyi huylu (selim) tümörlere verilen genel addır. Kanser hastalığında ise çeşitli nedenlere bağlı olarak hücrelerin aşırı ve düzensiz olarak bölünmeleri durumu söz konusudur. Kötü huylu hücreler bölündükçe vücuda yayılma yani metastaz yeteneği kazanırlar. Akciğer kanseri normal akciğer dokusunda bulunan hücrelerin aşırı şekilde kontrolden çıkarak akciğer doku içinde bir kitle (tümör) oluşturmasıdır (1).Türkiye'de 2016 yılında yapılan sağlık istatistik araştırmasına göre akciğer kanseri görülme oranı %52.5' tur. Akciğer kanseri görülme sıklığı erkeklerde kadınlara göre en fazla görülen kanser çeşidi olup, Akciğer kanserinden sonra sık görülen erkek kanser türleri sırasıyla prostat, kolorektal, mesane ve mide kanseri olacak şekilde takip etmektedir (2).

Kadınlarda ise en sık karşılaşılan kanser türü %43'lük oran ile meme kanseri olarak bildirilmektedir. Meme kanseri ise meme dokusunda yer alan süt kanallarının ve sütün oluşum sürecinde yer alan hücrelerin kontrol dışı çoğalmasına neden olan tümör çeşididir. Meme kanseri, östrojen ve progesteron reseptöründe yer alan insan epidermal büyüme reseptörü-1, luminal A ve luminal B gibi yapılar içerirler (3).

Sütte bulunan proteinlerin biyoaktif özellikleriyle ilgili 2015 yılında yaptıkları çalışmaya göre antitümöral, antioksidan, antiviral vb. etkilerinin olduğu, farklı kanserli hücreler üzerine baskılayıcı etkilerinin olduğunu, Duarte ve ark. 2010 yılında yaptıkları çalışmada sığır sütündeki laktoferrinin MCF-7 hücresine karşı antikanser ajan olarak rol oynadığını bildiren çalışmalar mevcuttur (4,5).

İnsan sağlığı açısından herhangi bir toksik etkisi bulunmayan doğal ürünlerin günümüzde kanser araştırmaları için kullanılabilmesi önemli yer tutmaktadır. Antikarsinojen ilaçların belli bir kısmı doğadaki birtakım moleküllerin organik dokularda sentezlenmesiyle oluşabilmektedir (6).

Kanserli hastaların tedavisinde başvurulan kemoterapi uygulamaları bazı hastalarda ağır yan etkilere sebep olmakla birlikte, ülke ekonomisine de ağır yük getirmektedir. Bu nedenle yan etkileri olmayan veya çok az olan, düşük maliyet içeren

doğal antikarsinojen bileşenlerin olumlu etkilerinin kullanılabilmesi önemli yer tutmaktadır (7).

Son yıllarda hayvansal ve bitkisel doğal bileşenlerin inflamasyon, enfeksiyon ve kanser gibi birçok hastalıkların tedavisinde önemli şekilde yer aldığı araştırmalar mevcuttur (8, 9).

Meme Kanser Hücre Hattı (MCF-7); Plevral effüzyonlu 69 yaşındaki Kafkasyalı bir kadından alınan invaziv bir duktal karsinomdur. Sitoplazmik östrojen reseptörleri yoluyla östradiol işleme yeteneği gibi meme epiteli olup pek çok özelliği gösterir. MCF-7, daha farklı görünen ve şekillenen lümen hücrelerinden oluşur. Kanser hücre dizileri, kopya sayısı ve gen ekspresyonu özellikleriyle birincil tümörlerin özelliğini gösterir. Hücre hattıyla ilgili endişelerden biri, çoklu pasajlar üzerinde genomik ve ekspresyon modellerinde stabilitenin korunmasıdır. Bununla birlikte, hücre hatlarının zamanla tekrarlayan anormallikler biriktirmediği kanıtlanmıştır (10).

Akciğer Kanser Hücre hattı (A549); A549 hücre ilk olarak D.J. Giard ve ekibi tarafından 1972 yılında 58 yaşındaki erkek hastanın akciğer dokusundaki tümörün çıkarılması ve invitro ortamda kültüre edilmesiyle primer olarak elde edilmiştir. Adenokarsinoma insan alveol epitel hücreleri olan A549 hücreleri optimum koşullarda flasklara in vitro bağlanarak konfluent olma durumudur (11).

Kanserli insan ve hayvanlarda hastalığın seyrini düzeltmek, hayat kalitesini artırmak önem arz etmektedir. Bu anlayışla çalışmamızda; inek, koyun, keçi ve eşek gibi farklı türlerin kolostrum fraksiyonlarınlarından elde edilen whey ve kazein proteinlerinin in vitro ortamda A549 ve MCF-7 farklı kanser hücreleri üzerine antikarsinojen etkileri olup olmadığını belirlemek, böylelikle düşük yan etkili ve az maliyetli doğal antikarsinojen bileşiklerin olası tespiti amaçlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Kanser

Kanser, vücutta yer alan herhangi doku veya organlarda bulunan hücrelerin kontrol dışı çoğalması sonucunda oluşan kötü urlara denir. Normal bir hücre, belli bir süre büyür, bölünmeye uğrar ve en sonunda kontrollü şekilde ölürler. Kanser hastalığı olan doku veya organ hücreleri ise, kontrolsüz bir şekilde çoğalır ve sürekli bölünürler. Normal hücreden kanserli hücrenin meydana gelişi birkaç mekanizma ile gerçekleşmektedir. Onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar ve tümör baskılayıcı genlerdeki kromozomal mutasyon sonucu hücrelerin aşırı çoğalması ve çoğalmanın durdurulamaması kanser hücrelerini meydana getirmektedir (12). Kanserleşmedeki diğer bir etken ise DNA'daki genetik yapının bozulması ve bu genlerin proteinler tarafından tamir edilememesidir. Söz konusu proteinler mutasyondan dolayı fonksiyon göstermemekte ve genetik bozuklukları zamanla artarak hücre büyümesi kontrolden çıkmakta neticede kanser hücreleri oluşmaktadır (13). Kanser terimi ilk kez Hipokrat tarafından (M.Ö. 460-377) metabolizma açısından yeni oluşumları anlatmak için dile getirilmiştir. Kanserli hücreler dokudaki normal hücrelere etki ederek kalıcı hasarlara neden olmaktadır (14). Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'nın açıklamış olduğu rapora göre 2030'da 24 milyon insanın farklı tipte kanser hastası olacağı, 17 milyon insanın ise kanser hastalığından dolayı yaşamını kaybedeceği öngörülmektedir (15). Günümüzde evcil hayvanlarda da çok fazla oranda tümör vakalarıyla karşılaşılmaktadır. Hayvanlarda meydana gelen tümör durumu hayvanın yaşına, cinsine, ırkına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Evde yaşayan hayvanlarda her yaşta tümör vakaları görülmektedir, ancak ileriki yaşlarda kötü huylu tümörlerin sıklığının artmış olduğu bildirilmektedir (16).

3.1.1. Hücre döngüsü ve kanser oluşumu

Normal bir hücrenin kanserli hücreye dönüşmesinde birtakım mekanizmalar rol oynamaktadır. Böyle bir hücrede yaşam döngüsü genel olarak dinlenme ve bölünme şeklinde iki kısımdan oluşur. Dinlenme dönemi yaşamsal olayların meydana geldiği ve bölünme dönemine göre oldukça uzun süren bir dönemdir; bu dönem G_0 fazı olarak tanımlanır. Bölünme dönemi ise G_1, S ve G_2 fazlarından oluşup mitoz bölünmenin

gerçekleştiği M fazından oluşmaktadır. G_1 fazında RNA ve proteinlerin üretimi yapılır, S fazında DNA kendini eşleyerek diploid hale getirilir, G_2 fazında ise mitoz bölünme safhası için son hazırlıklar yapılır. M fazına bir hücreden iki aynı hücrenin oluştuğu mitoz bölünme evresi denilmektedir. Bu evrenin sorunsuz bir şekilde gerçekleşebilmesi, birçok proteinin kendi arasındaki uyumu ve kontrolü ile sağlanmaktadır. Kontrol mekanizmasını yürüten bu proteinlerin sentezini düzenleyen genler protoonkogenler veya tümör baskılayıcı genler olarak tanımlanırlar. DNA dizilerinde gerçekleşen mutasyon protoonkogenlerin kansere neden olan onkogenlere dönüşmesine yol açmakta, bu durum normal koşullarda tümörlü hücrelerin meydana gelmesini engelleyen proteinleri üreten tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonuna neden olmaktadır (17).

A549 hücreleri G_0/G_1 ve G_2/M fazlarının bir birikim etkisine sahip olduğunundan apoptozisi baskılamakta, bu durum A549 hücrelerinin çoğalmasına neden olmaktadır. Hücre proliferasyonu ve farklılaşması G_1 fazında ve hücre döngüsündeki G_1-S geçişinde spesifik olarak kontrol edilmekte, onkojenik ilerleme, G_1 faz ilerlemesinin belirli düzenleyicilerini hedefleyerek en büyük etkisini göstermektedir (18).

Onkogenler, kanserli hücrelerin gen grubuna etki ederek bu hücreleri çoğalmaya zorlamaktadırlar. Tümör baskılayıcı genler ise, onkogenleri dengeleyerek hücrenin kontrolsüz şekilde aşırı çoğalmasını engellemektedirler. Onkogenlerde meydana gelen mutasyon, tümör baskılayıcı genleri inaktive ederek kanserli hücreler oluşmaktadır (19). p53 tümör baskılayıcı geni, 17. kromozomun p koluna yerleşmiş (17p13.1), 53-54 KDa ağırlığında olan gendir. DNA'da meydana gelen hasar p53 genini aktifleştirir. Aktifleşen gen hücre döngüsünün G_1 fazına etki ederek DNA'nın tamirini gerçekleştirmekte ya da hücreyi yaşlanmaya veya apoptoza götürmektedir. p53 tümör baskılayıcı gen, DNA'da hücre siklusunun kontrolünde ve hücre canlılığının korunmasında protein gen şebekesini oluşturur (20).

Kanser hücrelerinin oluşum sebepleri arasında pek çok faktörün olduğu bilinmektedir. Bu faktörler arasında radyasyona maruz kalma, kullanılan bazı ilaçlar, genetiğiyle oynanmış gıdalar, uzun yıllar sigara tüketimi, alkol, stresli bir yaşam, hareketsizlikten kaynaklı obezite durumu gibi birçok neden yer almaktadır (21).

Gelişmiş ve az gelişmiş ülkeler arasında kanser görülme sıklığı farklılık

göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde akciğer ve prostat kanseri erkeklerde daha fazla görülürken, meme kanseri kadınlarda daha sık gözükmektedir. Az gelişmiş ülkelerdeki erkeklerde daha çok mide ve karaciğer kanseri kadınlarda ise daha çok meme ve rahim ağzı (serviks) kanseri görülmektedir. Türkiye'de ise akciğer, mesane ve mide kanserleri kadınlarda meme kanseri ve erkeklerde kolorektal kanserleri sayılabilir (22).

Hayvanlarda tümör vakaları daha çok evcil hayvanlarda görülmektedir. Tümör vakaları, tümör çeşidi ve sayısı yönünden giderek artarken buna sebep olarak beslenme şekli, genetik faktörler, çevresel faktörler ve hormonal bozukluklar gibi etmenler gösterilmektedir. Hayvanların farklı doku ve organlarında farklı tümörler oluşmaktadır (23).

3.2. Kansere Neden Olan Genler

Kanserli hücrelerde, tümör baskılayıcı genlerle birlikte onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar ya da bu genlerin yanlış ifadelenmeleri sonucu tümörlü hücreler oluşur. Tümör baskılayıcı genler ya da onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar durumunda transformasyona sebep olan iki gen sınıfı vardır: Onkogenler öncelikle virüslerin sahip olduğu ve hedef hücrelerde transformasyona sebep olan genler olarak tanımlanmıştır. Viral onkogenlerin normal hücrelerde fonksiyon yapabilen hücresel benzerleri mevcuttur (24).

3.2.1. Onkogenler

Onkogenler, kontrolü kaybetmiş protein kodlayan genler olup, hücrenin prolifere olmasını stimüle eder ya da yaşlı hücre ölümünlerinin azalmasını sağlayarak etkisini gösterir. Normal genlerin mutasyona uğraması sonrasında onkogenler nedeniyle kanserli hücreler oluşur. Biyokimyasal aktivitelerine göre sınıflandırılmış yedi onkogen sınıfı bulunmaktadır. Bu onkogenler kanserli hücrelerin oluşmasına neden olabilecek özelliklere sahiptir (Tablo 1) (24).

Tablo 1. Onkogenler (25)

Onkogen	Gen Fonksiyonu	Oluşan kanser türü
Büyüme faktörü reseptörleri		
Erb-B1	Epidermal büyüme reseptörü	Skuamöz hücre karsinom
Ros	İnsülin reseptörü	Astrositom
Büyüme faktörleri	——	——
Sis	Trombosit kaynaklı büyüme	Fibrosarkoma
İnterlökin-2	Fibroblast	Meme
Trk	Sinir büyüme faktörü	Nöroblastom
Tirozin kinazlar	——	——
Src	Tirozin kinaz	Kolon
İck	Tirozin kinaz	Kolon
Guanin bağlayıcı proteinler	——	——
H-ras	GTPaz	Akciğer, pankreas, melanoma,
K-ras	GTPaz	Akciğer, pankreas, kolon, lösemi
N-ras	GTPaz	Melanoma, karsinom
Sitoplazmik olanlar	——	——
Bcl-2	Anti-apoptotik protein	B hücre lenfoması
Nükleer proteinler	——	——
Myc	Transkripsiyonal faktör	Lenfoma
Fos	Transkripsiyonal faktör	Sarkoma

Erb-B1;Epidermal büyüme faktör reseptör inhibitörü, Ros; Reaktif oksijen türü, Src; Proto-onkojenik tirozin kinaz, Bcl-2;B-hücreli lenfoma 2, Myc; Mikoplazma

3.2.2. Tümör baskılayıcı gen tanımları

Tümör baskılayıcı genler, normalde hücrenin kontrol dışı bölünmesine engel olarak hücre döngüsünü düzenleyip kontrolünü sağlarlar ve programlı hücre ölümünü başlatarak hücrenin çoğalmasını engelleyebilirler (24). Tümör baskılayıcı genler arasında BRCA 1, BRCA 2, p53, APC, RB1, p16 ve p21 gibi genler yer almaktadır. Örneğin, bazı kolorektal tümörlerde BUB1 ve BUBR1 genlerinin mutasyonu, mitotik kontrol noktalarının kaybı yoluyla kromozomal kararsızlığa yol açar. Tümör baskılayıcı genler arasında en çok araştırma konusu olan ve gen işlevi yeni yeni anlaşılan p53 tümör baskılayıcı geni, 53 kd ağırlığında olup insanların 17. kromozomunda/(17p13.1) bulunur. p53 tümör baskılayıcı geni, kanser oluşumunu baskılamada çok önemli yer alır. Tp53 geni insan kanser türlerinde en sık mutasyona

maruz kalan gendir. DNA zarar gördüğünde DNA tamirinde görev alan proteinleri harekete geçirir. Eğer mutasyon çok sık oranda gerçekleşirse, Tp53 geni fonksiyonunu yerine getiremez ve apoptoza karşı dirence yol açar (Tablo 2) (24).

Tablo 2. Tümör baskılayıcı genler (24)

Tümör Baskılayıcı Genler	İnsan Krozomal Yeri	Gen Fonksiyonu	Sporadik mutasyonla ilişkili insan tümörleri
APC	5q21	Hücre adezyonu	Kolon kanseri
BRCA 1	17q21	Transkripsiyonal Düzenleyici/DNA tamiri	Meme ve yumurtalık
BRCA 2	13q12	DNA onarımı	Meme ve yumurtalık
p53	17q11	Transkripsiyonel düzenleyici/büyüme durması/apoptoz	Beyin, kolon, meme ve akciğer
Rb1	13q14	Transkripsiyonel Hücre döngüsü düzenleyicisi	Retinoblastoma
INK4a	9p21	p19ARF, mdm2'yi bağlar, p53'ü stabilize eder	Melanoma, pankreas

APC; Antijen sunan hücre, BRCA 1; Meme kanseri 1, BRCA 2; Meme kanseri 2, p53; Tümör protein 53, Rb1; transkripsiyonel koruyucusu 1, INK4a; Gen inhibitörü

3.2.2.1. Tümör nekroz faktörü α (TNF-α)

Doğal immünitede rol oynayan Tümör nekroz faktör-α (TNF-α), gen ekspresyonunu veya apoptozisi indükler. Lenfosit ve fibroblastlar vücutta meydana gelen inflamasyon, enfeksiyon ve yaralanma gibi etkenlere cevap oluşturan güçlü bir sitokin ailesidir. Lenfosit ve lökositler aktive olmak suretiyle hücrenin proliferasyonu sağlamakta, hücrelerin farklılaşması ve apoptozla birlikte birçok hücresel yanıtın durumunu ortaya çıkarmaktadırlar (26).

3.2.2.2. İnterlökin-2 (IL-2) sitokin

Adaptif immünitede rol alan sitokin ailesinden olan İnterlökin-2, T hücre büyüme faktörü olarak adlandırılır ve T hücre klonal ekspansiyonundan sorumludur. Antijen ile aktive olan T hücrelerinin apoptotik olayla ölümünü artırır (27).

3.2.2.3. İnterlökin-6 (IL-6) sitokin

Doğal immünitede rol oynayan diğer bir sitokin ailesi olan İnterlökin-6, mononükleer fagosit, fibroblastlar ve başka hücrlerce sentezlenir. Antikor yapımı için farklılaşmış B hücrelerinin büyümesini uyarır (27).

3.3. Apoptozis

Doku hücre sayısını dengesinin sürdürülmesi için gerekli olan ve genetik olarak kontrolü sağlayan hücre ölüm şeklidir. Diğer bir deyişle programlı hücre ölümü de denmektedir. Apoptoz (a-po-toe-sis) terimi ilk kez 1972'de Kerr, Wyllie ve Currie tarafından bir makalede morfolojik olarak hücrelereki ölümü belirtmek için tanımlamıştır (28,29).

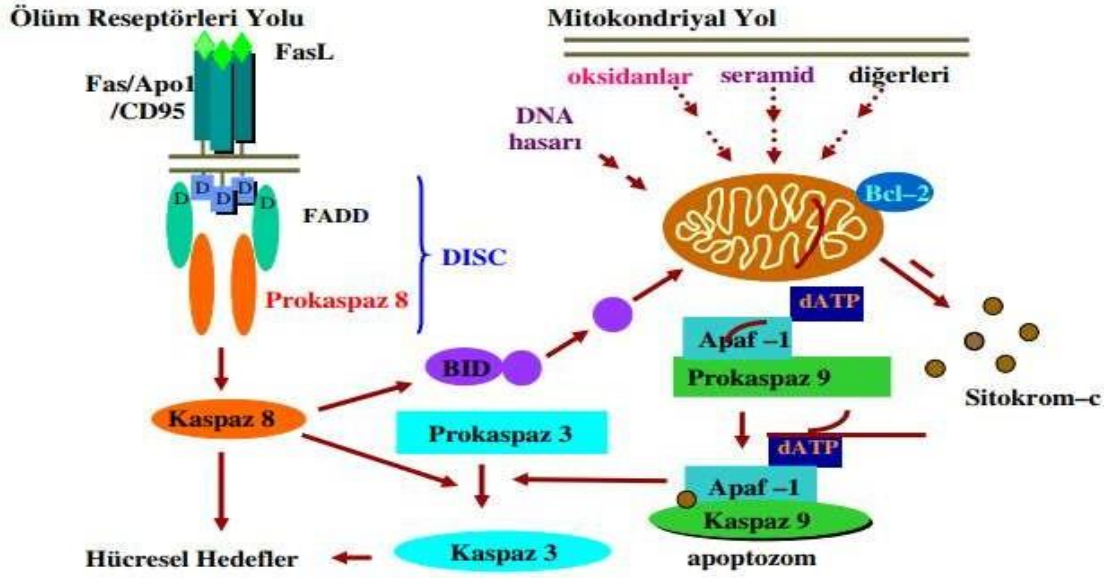
Apoptozisin erken sürecinde, ışık mikroskobu altında hücrelerin küçülmesi ve hücre çekirdeğinin büzüşüp küçülmesi görülebilir (28). Hücrelerin küçülmesi olayı hücre büzülmesi olayıyla gerçekleşir, sitoplazma yoğun hale geçer ve organeller sıkı görünümlü konuma gelirler. Hücre çekirdeğinin büzüşmesi apoptozun en karakteristik özelliklerindendir ve kromatin yoğunlaşması neticesinde meydana gelir. Hücreler, hücre-hücre temasında yer alan mikrovillus membran yapılarını kaybetmesi sonucu komşu hücrelerden ayrılır. Yapısı korunmuş organellerin zarla sarılı apoptotik parçacıkları hücrelerden ayrılırlar. Fosfatidilserin plazma zarı dışına konumlanarak bu oluşum fagositlerin apoptotik hücreleri tanımasını sağlar (30).

3.4. Apoptozda Meydana Gelen Biyokimyasal Değişiklikler

Apoptotik hücrelerdeki protein hataları sonucu, DNA'da mutasyonlar meydana gelir. Apoptoz, hücrelerin genetik olarak belirlenmiş eliminasyonunu içeren "programlanmış" hücre ölümünün ayırt edici ve önemli bir modu olarak kabul edilmektedir. Apoptoz, normal olarak hücrelerde gelişme ve yaşlanma sırasında dokulardaki hücre popülasyonlarını korumak için bir homeostatik mekanizma olarak meydana gelir. Apoptoziste ise; hücre yapıları etkilenerek bozunmaya uğrar ve hücre küçük küresel yapılara bölünürler. Apoptotik hücrelerde yaygın olarak ekspresyondan kaynaklı, proteinlerde çapraz bağlanma gerçekleşebilir (30). Bugüne kadar yapılan araştırmalar, ölüm reseptör yolu veya mitokondriyal yol şeklinde iki ana apoptotik yol olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, iki yolun bağlantılı olduğuna ve bir yoldaki moleküllerin diğerini etkileyebileceğine dair kanıtlar da vardır (31). Diğer bir biyokimyasal özelliği bünyesinde barındıran apoptotik hücreler iki tabakalı lipit tabakasında fosfatidilserin yapısının oluşturduğu hücrelerin açığa çıkmasıdır. Bu nedenle hücre erken dönemde ve erken şekilde fagositozu oluşumunu sağlar (32).

Kaspazlar, çoğu hücrede proenzim olarak ekspresyona uğrar. Mevcut olan kaspaz

başka bir kaspazı aktive ederek apoptosiz oluşumunu sağlayarak hücre ölümünü gerçekleştirebilir. Günümüze kadar 10 önemli kaspaz belirlenmiştir: Apoptoz süreçte görev alan kaspazlar (Kaspaz-3, 6, 7, 8 ve 9), apoptotik süreçte yer alan kaspazda başlatıcı olanlar (Kaspaz 8, Kaspaz 9, Kaspaz 10), infazcı kaspazlar (Kaspaz 3, Kaspaz 6, Kaspaz 7), inflamasyonda yer alanlar (Kaspaz 1, Kaspaz 4, Kaspaz 5 ve 12) şeklinde belirlenmiştir (33). Diğer kaspazlar ise apoptozu düzenleyen ve sitokinin olgunlaşmasını sağlayan enzim Kaspaz 11, sitotoksisite ve apoptozis oluşumunu sağlayan Kaspaz 12 olarak saptanmıştır (Şekil 1) (34,35).



Şekil 1. Apoptotik yolaklar (36)

3.5. Meme Kanseri

Dünyada kadınlarda en sık karşılaşılan kanser çeşididir ve ciddi bir sağlık sorunu olarak günümüzde yerini korumakla birlikte akciğer kanserinden sonra en fazla görülen kanser türü olması bakımından ikinci sırada yer almaktadır (37). IARC'nin [International Agency for Research on Cancer] (Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı) raporuna göre her beş yılda bir meme kanseri olan kadın hastaların sayısı %50 oranında arttığı bidirilmektedir. Dünyada her yıl 1,5 milyondan fazla kadına (tüm kanserli kadınların %25'i) meme kanseri teşhisi konmaktadır (23). Bazı gelişmiş ülkelerde, meme kanseri hastalarının 5 yıllık nispi hayatta kalma oranı, erken önlemler sayesinde %80'in üzerine çıkmış bulunmaktadır. Bu sebeple erken tanı ve tedavi noktasında önemli bir yer

tutmaktadır. Son on yılda meme kanserinin anlaşılmasında ve koruyucu yöntemlerin geliştirilmesinde büyük ilerleme kaydedilmiştir.

Meme kanseri metastaz oluşum şekline ve tümörlerin miktarına göre çeşitli evrelerden oluşur (38). Bu evreler şunlardır:

Evre 0

Eğer tümör süt bezlerinde (lobes) oluşmuşsa lobular carcinoma in situ (LCIS) şeklinde adlandırılır, eğer süt kanallarında (ducts) tümör oluşmuşsa ductal carcinoma in situ (DCIS) olarak tanımlanır (38).

Evre I

Bu evre meme kanserinin başlangıç aşamasını oluşturur. Tümörlü hücre meme dışındaki yerlere (lenf bezleri gibi) metastaz yapmadığı evredir (38).

Evre II

2 alt kısma ayrılmaktadır. Evre IIA'da:

• Meme bölgesinde kanser hücresi yoktur.

Evre IIB'de ise:

• Kanser hücresi koltuk altı lenf bezlerine yayılmıştır (38).

Evre III

Bu evrede kanserli hücreler daha ilerlemiş olup 3 alt kısma ayrılmaktadır:

IIIA evrede, lenf bölgesinde tümör hücresi vardır ancak meme bölgesinde tümörlü hücre yer almamaktadır. IIIB evrede kanser hücresi belli büyüklüğe ulaşmış ve meme bölgesine yakın komşu dokulara ve lenf bezlerine yayılmıştır. IIIC evrede ise, kanser hücreleri boyun bölgesindeki lenf nodlarına ve meme bölgesine yakın dokulara metastaz yapmış durumundadır (38).

Evre IV

Son evrede ise tümör hücreleri meme bölgesinden uzak dokulara metastaz yapmıştır. Tümör göğüs bölgesinin dışında kemikler, akciğer ve karaciğere yayılmıştır (38).

3.5.1. Meme kanseri hücre hattı (MCF-7)

MCF-7, östrojen ve progesteron gibi hormon reseptörlerine sahip olan hücre hattı olarak tanımlanır. MCF-7 kanserli hücre ilk defa, 1970 yılında 69 yaşındaki Kafkas uyruklu bir kadın hastadan elde edildi. MCF-7, Michigan Kanser Vakfı – 7' kısaltmasıdır. MCF-7, hücre hattında Bcl-2 salınmasıyla birlikte kaspaz 6, 7 ve 9 ekspresyonunla da gerçekleşmektedir (39). İn vitro ortamda hücre kültürüyle ilgili meme çalışmalarında, MCF-7 hücreleri elverişli bir hücre hattıdır. Ayrıca hücre iskeletinde bulunan keratin proteinlerine karşı hassasiyeti bulunmaktadır. Laboratuvar ortamında çoğaltıldığında, hücreler kubbeler şeklini alarak tek tabakalar şeklinde çoğalırlar. Meme kanseri araştırmalarında farklı antikanser ilaçlarda dâhil olmak üzere birçok çalışmalarda, sık olarak tercih edilmektedir. Metastatik özelliği düşük düzeyde olup, agresif özelliği oldukça zayıf ve istilacı olmadığı bilinen bir hücre hattıdır (40). C. Freiburghaus ve ark. 2010 yılında yapmış oldukları sığır sütündeki ubikitinin insan kolon kanser hücresi ($CaCO_2$) üzerine olan etkisi adlı çalışmada, 0.02 ila 2.0 μmol/L Ubikitin (Ub) ile tedavi edilen $CaCO_2$ hücrelerinin proliferasyonunu azalttığını bulmuşlardır (41). Ankita Sharma ve ark. 2019 yılında inek kolostrumdan elde edilen kolostrumdaki laktoferrin (Lf) proteinin antikanser potansiyeli açısından değerlendirilmesi isimli çalışmada, laktoferrini iki hücre tipi olan MDA-MB-231 ve MCF-7 hücrelerini tedavi etmek için kullanılmış ve Lf'nin kanserli hücre hatlarında in vitro büyümeyi çeşitli ölçüde de olsa inhibe ettiği sonucunu elde etmişler (42).

3.6. Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, dünya genelinde erkekler arasında en yüksek görülme sıklığına sahip olup, yıl bazında yaklaşık 1,2 milyon kişinin ölümüyle sonuçlanmaktadır. Akciğer ve prostat kanseri, erkeklerde görülme sıklığı açısından ilk sıralarda yer almaktadır (43).

Akciğer kanseri oluşmasında sigara, çeşitli meslek grupları, hava kirliliği ve radyasyona maruz kalma en önemli nedenleri oluşturmaktadır. Akciğer kanserine yakalanmada obezite, immunolojik faktörler, cinsiyet ve genetik faktörlerin de önemli yeri vardır. Sigara kullananlarda, kullanılan sigara türüne bağlı olarak skuamoz hücreli kanser ve adenokanser oranı değişlik gösterir. Sigaranın yaygın ve yüksek dozda kullanıldığı gelişmiş ülkelerde, nitrozaminlerin ön planda olduğu akciğer kanseri

hücre tipi adenokanser olup daha sık görülmektedir (44).

Akciğer kanseri, hastalığın sistemik etkinliğine bağlı olarak pek çok belirti, klinik ve laboratuar bulgularına neden olabilir. Bunlar tümörün bulunduğu bölgeye, büyüme ve yayılma özelliğine ve metabolik aktivitesine bağlıdır. Hastalar öksürük, kilo kaybı, nefes darlığı, göğüs ağrısı, kemik ağrısı, yüksek ateş, halsizlik, yutma güçlüğü gibi semptomlarla kliniklere başvurabilmektedir (45).

3.6.1. Akciğer kanseri hücre hattı (A549)

Küçük hücreli olmayan akciğer tümör hücreleri, bazal epitelyal yapıda olup insan alveolarında yer alan hücre hattıdır. İlk kez Akciğer tümörü, 1972 yılında D.J. Giard vd., tarafından belirlenmiştir. Akciğer tümör hücresi 58 yaşındaki Kafkasyalı bir erkekte pulmoner endodermal tümör teşhisi sonrasında alınmıştır. Akciğer tümör hücresi, kültür flaskına yapışan tek tabakalı ve bu flasklarda çoğaltılabilen hücre dizinidir. A549 hücreleri hipotriploid yapıya sahip olup tümör baskılayıcı P53 geni bulunmaktadır (46).

Kanser genomunun düzenlenmesi, kansere bağlı mutasyonların keşfedilmesine olanak sağlamıştır. Yapılan bir çalışmada, adenokarsinomlu hastalarda yeni somatik mutasyonların keşfiyle, kanser aktivitesi olan 623 genin DNA dizilemesinde 1.000 somatik mutasyon olduğunu belirlemiştir. Bu somatik mutasyonlar büyük olasılıkla tümörlü hücrelerin oluşumuna sebep olmaktadırlar (47). Erdal Eroğlu ve ark. yapmış oldukları eşek sütü ve bazı bileşenlerinin *in vitro* ortamda antikanser/yara iyileştirme aktivitesinin incelenmesi adlı çalışmada, eşek sütü ve kazein proteinlerinin prostat kanseri hücre hattı (PC-3) üzerindeki antikanser aktivitesini MTT hücre proliferasyon testi kullanılarak incelemişler ve MTT denemelerinde özellikle kazein proteininin %140 hücre proliferasyonuna sebep olduğu sonucunu bulmuşlardır (14). Çetin Akca'nın yapmış olduğu ''Eşek Sütünün Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin Kanserli ve Sağlıklı İnsan Akciğer Hücre Hatları Üzerine Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması'' adlı yüksek lisans tez çalışmasında eşek sütünün sağlıklı (BEAS-2B) ve A549 hücre hatları üzerindeki *in vitro* sitotoksik etkilerini incelediklerinde, eşek sütünün özellikle A549 hücre hatlarında yüksek anti-proliferatif etkiye sahip olduğu sonucunu bulmuşlardır (48).

3.7. Sütle İlgili Genel Bilgiler

Süt ve süt ürünleri, birçok besin öğelerini içeren, immünoglobulinler, hormonlar, büyüme faktörleri, sitokinler, lipit, protein, vitamin ve mineral bakımından oldukça katkısız gıda ürünleridir. Kazein proteinleri, başta kalsiyum olmak üzere protein ve tuzların kolloidal zengin komplekslerini içerir (49). Süt ve süt ürünleri tüketiminin giderek azalması olumsuz sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Son çalışmalar göstermiştir ki süt ve süt ürünlerinin tüketimi sağlık için daha büyük önem taşımaktadır (50). Kolostrum sütten önemli ölçüde farklılıklar göstermektedir. En önemli fark ise laktasyona kıyasla kolostrumda yaklaşık iki kat olan süt proteini konsantrasyonudur (51).

3.7.1. Sütteki proteinler

Süt proteini oldukça yüksek biyolojik değere sahiptir ve bu nedenle süt esansiyel amino asitler için çok iyi bir kaynaktır. Süt, besinlerin emilimini kolaylaştıran bunun yanısıra büyüme faktörleri, hormonlar, enzimler, antikorlar ve bağışıklık uyarıcıları olarak görev yapan çok çeşitli proteinler içerir(Tablo 3) (52,53). Sütün kazein içeriği, süt proteinlerinin yaklaşık %80'ini içerir. Kazeinin biyolojik işlevi, iyi bir sindirim için kalsiyum ve fosfat içermek ve midede pıhtı oluşturmaktır. Kazein proteini vücutta kalsiyum, çinko, bakır, demir ve fosfat iyonlarının taşınması gibi biyolojik aktivite sergilediği bilinmektedir (54). Peynir altı suyu proteinleri, kazeine göre suda çözünen küresel proteinlerdir ve temel fraksiyon içerikleri; laktoferrin, lizozim, serum albümini, alfa-laktalbümin, beta-laktoglobulin ve immünoglobulinlerdir (Tablo 4). Whey proteini sütün kesilmesinden sonra kalan sıvı kısımdır ve peynir gibi insan tüketimine yönelik birçok üründe kullanılır. Amino asitlerin sindirim sırasında ve dolaşımdaki emilme hızı süt proteinleri arasında farklılık gösterebilir ve peynir altı suyu proteinleri, yüksek konsantrasyonlarda amino asitler içeren hızlı sindirilen proteinler olarak kabul edilir (54). Whey protein suyu içmenin biyolojik faydası yüzyıllardır biliniyor ve İtalya'nın Floransa kentinde dile getirilen iki eski atasözü, "Sağlıklı ve aktif bir hayat yaşamak istiyorsanız peynir altı suyu için" ve "Herkes peynir altı suyuyla yetiştirilseydi, doktorlar iflas etmek zorunda kalırdı "der (55).

3.7.1.1. Sütün protein içeriği ve bileşenleri

Sütte bulunan protein miktarları hayvanın ırkı, yaşı ve beslenme türüne bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Farklı türdeki süt proteinlerinin düzeyi ve amino asit oranı beslenme üzerinde küçük bir etkisi vardır. Süt ürünlerinin ısıl işleme maruz bırakılmasıyla proteinlerde yapısal değişiklik meydana gelir (56).

3.7.2. Sütte bulunan mineral, vitamin ve antioksidanlar

Süt yapısında birçok mineral, vitamin ve antioksidan içerir. Antioksidanlar sütün oksidasyonunu önlemede büyük rol oynamanın yanısıra süt üreten hücrelerde ve meme bezlerinde koruyucu etkileri olabilir**.** Sütte bulunan en önemli antioksidan mineral selenyumdur. Vitamin olarak da antioksidan rol oynayan A ve E vitaminleridir. Sütteki antioksidan görevi üstlenebilecek birçok bileşik olduğu için sütün toplam antioksidan kapasitesinin ölçülmesi faydalı olabilir (57).

İnsan beslenmesinde önemli yer teşkil eden bazı mineraller bulunmaktadır. Sütteki kalsiyum konsantrasyonu, laktasyon süresince çok az değişikliklerle birlikte nispeten sabittir. Kalsiyum genel olarak (%65) kazein ile ilişkilidir (58). Sütte bulunana magnezyum ve çinko içeriği küçük farklılıklar gösterir. Sığır sütünde bulunan selenyum konsantrasyonu, yemdeki selenyum konsantrasyonu ile yakından ilişkili olup yetiştirilme biçimlerine göre büyük farklılıklar gösterebilir. Güney Dakota bölgesindeki sütte selenyum konsantrasyonunun 160 ile 1300 µg/l arasında olduğu rapor edilirken, düşük selenyum içeren İskandinavya ve Kuzey Avrupa ülkelerinde ise sütlerdeki konsantrasyonların 5 ila 30 µg/l arasında olabileceği rapor edilmektedir (59). Somaye Shahraki ve ark. 2019 yılında ‘‘Yeni Lantan (III) Kompleksi ile Peynir Altı Suyu Protein Kompleksinin Kanser Önleyici Düzeyinin Belirlenmesi’’ adlı çalışmalarında hazırlanan La(III) kompleksini ve peynir altı suyu proteinleri (sığır serum albümin ve sığır β-lactoglobulin, bLG) MCF-7 hücre hatlarına karşı etkisi ve antikanser aktiviteleri MTT yöntemine göre araştırıldı. MTT testin sonuçları, üç inkübasyon süresinin hepsinde, hazırlanan La(III) kompleksinin MCF-7 meme kanseri hücre hatları üzerinde sitotoksik etkisinin zamana ve doza bağlı olarak inhibitör etki gösterdiği şeklindedir (60).

Tablo 3. Farklı türlerin süt bileşimi (61,62,63)

Bileşenler	İnsan[a]	Eşek[b]	At[b]	Deve[a]	İnek[c]	Keçi[b]
Kuru madde	124.0	88.4	102.0	124.7	127.0	122.0
Yağ	38.0	3.8	12.1	38.2	37.0	38.0
Laktoz	70.0	68.8	63.7	44.6	48.0	41.0
Kül	2.0	3.9	4.2	7.9	7.0	8.0
Protein	9.0	17.3	21.4	33.5	34.0	35.0
Kazein/Protein	0.4:1	1.3:1	1.1:1	1.7:1	4.7:1	3.5:1

[a,b,c]Veriler (insan, eşek, at, deve, inek ve keçi), Ortalama değer g kg-1 süt olarak ifade edilmiştir.

Tablo 4. Farklı türlerde süt proteini içeriği (64,65,66,67)

Süt Proteinleri	**İnsan[b]**	**Eşek[b]**	**At[b]**	**Deve[a]**	**İnek[b]**	**Keçi[c]**
Toplam Protein	97.0	107.0	130.0	127[e]	99.0	3.7-7
B-laktoglobulin	——	29.8	30.7	——	50.8	1.8-2.8
α-laktalbumin	40.3	22.6	28.5	——	19.0	0.6-1.1
Serum albümin	7.7	6.2	4.4	——	6.3	0.3
İmmünoglobulinler	15.5	11.5	19.6	1.54[d]	12.7	——
Laktoferrin	26.6	4.48	7.0	0.24[d]	1.6	0.12
Lizozim	5.5	21.0	10.5	0.06[f]	Zerre	——

[a,b,c,d,e]Veriler (insan, eşek, at, inek, keçi ve deve), Ortalama değer mg 100 g-1 süt olarak ifade edilmiştir.

3.8. Kolostrum ile İlgili Genel Bilgiler

Kolostrum, doğum gerçekleştikten sonraki süreçte annenin meme bezlerinden salgılanan, 24-72 saat süresince oluşan koyu sarı renkte oldukça viskoz besleyici özelliği olan bir maddedir. Ağız sütü olarak da adlandırılmakta olup, doğumdan sonra saatler içerisinde oluşup normal süte kıyasla dört ile altı kat oranında daha fazla protein içerir. Vitamin A ve vitamin E bakımından zengindir. Mineraller arasında magnezyum mineralinin oranı yüksektir. Globulin miktarıyla birlikte antikor konsantrasyonu da oldukça yüksek düzeydedir. İnek kolostrumu da katalaz, lipaz ve amilaz gibi bazı enzimlerin konsantrasyonları oldukça yüksek, laktaz enzimi düzeyi ise düşük düzeydedir. Kolostrumun rengi ilk günlerde sarımsı renkte olup, tat bakımından acıya

yakındır. Viskozitesi, asitlik derecesi, özgül ağırlığı oldukça yüksek olup ısıl işlem uygulandığında hassas özelliğinden dolayı çok kısa sürede kesilir. Kesilen kolostrum mikroskopta incelendiğinde, kolostrum cisimcikleri ve bazı parçalar görülmektedir. Doğumdan sonra kolostrum yapısı değişerek 4. günün sonunda normal sütün özelliğini kazanır. Kolostrumun sindirimi oldukça kolaydır ve ağız sütü normal sütten %40 daha besleyici özelliğe sahiptir (68,69).

Kolostrum protein, karbonhidrat, yağ, aminoasitler, vitamin ve mineraller gibi besin öğelerince zengin olup immunoglobulinler (IgG, IgM, IgA), büyüme faktörleri (insülin benzeri büyüme faktörü-IGF, antikorlar, antimikrobiyal maddeler, laktoperoksidaz ve laktoferrin, interlökin 1 beta (IL-1B), tümör nekroz faktör alfa (TNF alfa) gibi sitokinler ve antioksidan içerikli maddeler ihtiva etmektedir (70,71,72). Oxford Gıda ve Beslenme Sözlüğü'ne göre, kolostrum "memeliler tarafından doğumdan sonraki ilk birkaç gün içinde üretilen süttür; normal sütle kıyaslandığında insan kolostrumu daha fazla protein (1.3 g/100 ml), biraz daha az laktoz (7.2 g/100 ml), önemli ölçüde daha az yağ (4.1 g/100 ml) içerir (73).

Kolostrumun bileşimi ve içerdiği maddeler hayvanın beslenme, çevre ve barınma koşullarına, doğumdan sonraki süreçte kolostrumun memeden toplandığı zaman ile kolostrumun işlenme ve yoğunlaştırma prosedürlerine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (74). Pensilvanya'da yapılan bir araştırmada, bir çiftlikten toplanan sığır kolostrumlarının yağ, protein ve laktoz oranları sırasıyla % 6.7, 14.9 ve 2.5; laktoferrin düzeyi 0.8 mg/ml; retinol, tokoferol ve beta karoten düzeyleri sırasıyla 4.9, 2.9 ve 0.7 mikrogram/g; niasin, tiamin, riboflavin, vitamin B12, pridoksal, pridoksamin ve pridoksin düzeyleri sırasıyla 0.34, 0.90, 4.55, 0.60, 0.15, 0.21 ve 0.04 µg/ml olarak bulunmuştur. Zengin içeriği ve bileşimi nedeniyle kolostrum çeşitli amaçlarla kullanılabilir. Bunlar; vücut metabolizmasını düzenleyici ve egzersiz performansını artırıcı, immün sistem yetersizliğine bağlı ishaller, enfeksiyöz hastalıklardan (Vibrio cholerae, cryptosporodiosis, Helicobacter pylori, Rotavirus, Shigellosis) korunma ve bu hastalıkların tedavisi, multiple sclerosist, NSAI ilaçlara bağlı gastrointestinal inflamasyon durumundaki artışta koruyucu ve tedavi edici, ameliyat işlemleri öncesi koruma şeklinde sıralanabilir (72). Kolostrumun bağırsaktan Fe ve Ca gibi minerallerin emilimini artırıcı etkileri olabileceği de ileri sürülmüştür (71,75,76).

Kolostrumun metabolit ürünü olan laktoferrin'in insanlarda görülen birçok kanser formunun meydana gelmesini engellediği, antimutajenik etkileri olduğu, kalp-damar hastalıklarına karşı koruduğu, laktoperoksidazla birlikte kas gelişimini uyardığı ve yaşlanma sürecini uzattığı, bazı mikrobiyal enfeksiyonlara karşı koruyucu etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir (71,77).

Kolostrumda bulunan aktif bileşenlerden diğeri ise serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini nötralize edici, C ve E vitaminleri ile aktif metabolitlerinin tüketimini azaltıcı yönde etki gösteren ve hücrede sentezlenen glutasyonun yapısına katılan sistin'dir. Kolostrum sistinle birlikte albumin, laktoferrin ve laktoalbumin proteinleri yönünden de zengin içeriğe sahiptir ki laktoferrin demir ve bakırın hücre içine taşınmasına rol oynar (78). Kolostrumda mevcut olan proteinlerin demirle şelat oluşturarak, demirin lipid peroksidasyonuna karşı hücrede koruyucu etki gösterdiği, içeriğinde bulunan hücrede koruyucu etki gösterdiği, içeriğinde bulunan konjuge linoleik asit nedeniyle de antikarsinojen ve antioksidan etkileri gösterdiği bildirilmektedir (79).

Kolostrumun son derece güvenli doğal bir besin maddesi olduğu, insanlarda şişkinlik ve mide bulantısı gibi hafif düzeyde gastrointestinal şikâyetler dışında önemli bir yan etkisinin bulunmadığı belirtilmektedir (72).

3.8.1. Kolostrum protein bileşenleri

Sığır kolostrumunda protein içeriği yaklaşık olarak %14-26 oranındadır. Kolostrum, normal sütteki protein içeriği (yaklaşık %3,1) ile kıyaslandığında oldukça yüksek oranda protein içermektedir (80). Kolostrumda bulunan başlıca proteinler; kazein, immunoglobulinler, whey proteinleri olarak bilinen beta-laktoglobulin, alfa-laktalbümin, laktoferrin, lizozim ve serum albümindir. Kolostrum protein içeriğinin büyük bir kısmını ise immunoglobulinler oluşturmaktadır. Kolostrum yeni doğan yavrular için yalnızca besin kaynağı değil aynı zamanda bakteri, virüs ve mayalara karşı savunmayı sağlayan immun sistemin güçlendirilmesi için de önemlidir (81). Kazein proteini, sütte bulunan total proteinin yaklaşık %80'ını teşkil eder ve bünyesinde α_1 -, α_2 -, β- ve κ- olmak üzere farklı özelliklere sahip dört fragmentten oluşmaktadır. Kendine özgü yapısı ile çok özel bir proteindir. İnsanlarda bebeklik döneminde bu proteini sindiren lap enzimi bulunur ama ileriki dönemlerde bu enzimi

üreten gen kapatılır. Süte alerjisi olmayan birinin kazeine alerjisi olabilir. Proteinlerin bazılarında büyüme, gelişme ve canlılığın sürmesi için gerekli tüm aminoasitler bulunmaktadır. Süt proteini olan kazein de bu nitelikte olan bir proteindir ve kazein asitle sütten ayrılabilir (Tablo 5) (82).

Tablo 5. Kolostrumda bulunan proteinler ve melokül ağırlıkları

Kolostrum Proteinleri	İzoelektrik Nokta (Pı)	Molekül Ağırlıkları (kDa/mol)
İmmunoglobulinler (IgG, IgA, IgM)	5.8-7.3	150-900
Lizozim	6.5	14
Laktoferrin	8	78
Serum Albümin	4.9-5.1	66
beta-laktoglobulin	5.2-5.4	18.3
alfa-laktalbümin	4.2	14.2
Kazein	4.6	20-25

3.8.2. Kolostrumdaki biyoaktif bileşenler

3.8.2.1. İmmünoglobulinler

Buzağılarda doğumdan bir yaşına kadar olan süreçte açığa çıkan B lenfosit hücre eksikliğine bağlı olarak savunma yetmezliği oluşmaktadır. Bu bakımdan genç buzağılar bağırsak ve solunum mukozasını koruyacak kendi immun sistemlerini geliştirme sürecinde yetersiz kalırlar (83). Kolostral IgG yenidoğan buzağılarda ikili koruyucu etki gösterir. İnce bağırsaklardan absorbe edilen IgG'ler immun farklılıklara karşı koruma gerçekleştirirken, bağırsaklardan emilmeyen IgG'ler ise sadece bağırsaklarda bölgesel koruyucu etki gösterirler (84,85).

İmmunoglobulinler, hayvanların serum ve diğer vücut sıvılarında bulunur ve glikoprotein yapısında molekül olup yüksek moleküller ağırlığa sahiptirler (86). İmmunoglobulinlerin aminoasit içeriği, memeli sütünde ya da serumunda yer alan proteinlerin aminoasit özellikleri bakımından farklılıklar gösterirler. İmmunoglobulin molekülünde uzun zincir bulunması yapıya farklı biyolojik özellik kazandırır (87).

Kolostrumda bulunan immunoglobulinlerin en önemli özelliği antimikrobiyel etki göstermeleridir. İnek kolostrumunda IgG, IgA, IgM olmak üzere üç farklı antikor bulunur. İmmunglobulinlerin %85-90'nı IgG, %5'ini IgA ve % 7'sini IgM meydana getirir (88). Daha az oranda yer alan IgD ve IgE diğer immunglobulin çeşitleridir.

Elfstrand ve ark., kolostrum numunesinde 1.6 mg/ml IgA, 90 mg/ml IgG_1, 2.8 mg/ml IgG_2, ve 4.5 mg/ml IgM bulunduğunu bildirmektedirler (89). İmmunoglobulinler, antijenik ve fiziko-kimyasal farklılıklara bağlı olarak büyük ve küçük sınıflara ayrılır (86). Sığırlarda ise IgG; IgG_1 ve IgG_2 glikoprotein yapısında yer alır. Sığırlarda bulunan bu immunoglobulinler arasında çok az farklılıklar vardır ve kan serumunda eşit yoğunluktadırlar (90). Serum ve whey proteinlerdeki immunoglobulinlerin yaklaşık %85-90'ını IgG oluşturmaktadır (91). IgG_2 serum içerisinde yüksek miktarlarda bulunurken kolostrum ve sütte ise daha düşük miktarlarda yer alır. Buzağıdaki immunite için gerekli temel antikor IgG_1'dir (86). Absorbe edilen immunoglobulinler hızlı bir şekilde sirkülasyona girdiklerinden patojenlerin enfeksiyonunu büyük ölçüde önlerler. IgG_1 antikor olarak savunma mekanizmasında büyük görevler üstlenir ve patojenlere karşı dirençte doğrudan yer alır. IgG'nin en önemli fonksiyonlarından birisi mikroorganizmalara etki ederek vücuttaki hastalık etkenlerini zararsız hale dönüştürmeleridir. Vücuttaki patojenleri bulup, tanımlayarak zararsız hale getirir (79). Büyük oranda meme bezindeki plazmositlerden salgılanan IgA ve IgM kolostrumda bol miktarda bulunur. IgG'den vücutta çok az miktarlarda üretilmekle birlikte IgM virüslerin yıkıma uğratılmasında çok yüksek düzeyde etki gösterir. Bununla birlikte vücuttaki antijenlere karşı ilk immün cevapların oluşturulmasında önemli immün yanıtları da bulunmaktadır (79).

3.8.2.2. Laktoferrin

Laktoferrin, molekül kütlesi 80 kDa olan demir bağlayıcı bir glikoprotein olup kolostrum, süt, rahim salgıları, gözyaşı ve tükürükle salgılanır. Önemli bir savunma glikoprotein molekülü olarak kabul edilen Lf'in vivo, in vitro ve hücre hattı deneylerinde antimikrobiyal, anti-oksidatif, anti-inflamatuar, antikanser ve immün düzenleyici gibi biyolojik görevler üstlenmektedir (92,93,94). İnsan kolostrumunda toplam protein miktarı 7 g/L iken Lf proteini yaklaşık olarak 1 g/L'dir. Lf, Fe^{2+} ve Fe^{3+} iyonlarını bağlayarak insan bağırsağında biyo yararlanımları arttırarak mikrobiyal zararlıları yok eder. Lf mikrobiyal hücreye yapışarak ölümcül düzeyde hasara neden olur. Lf fibroblastlar ve bağırsak epitel hücreleri de dâhil olmak üzere çeşitli hücre dizilerinin in vivo büyümesini stimüle eder (95). Lf süt yoluyla tedarik edilip gelişmekte olan yenidoğanlara verildiğinde bağırsak büyümesini düzenlemede önemli bileşen olabileceği ileri sürülmektedir. Ayrıca sığır Lf ile beslenen bebeklerde

solunum yolu enfeksiyonlarının önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (96). Lf ve bileşenleri enteropatojenik E. coli, gıda zehirlenmesi, pnömoni, peptik ülser, Vibrio kolera (kolera) ve hepatit C, G ve B virüsü (karaciğer iltihabı), HIV-1, sitomegalovirüslere karşı aktivite gösterirler (97,98).

3.8.2.3. Lizozim

Lizozim, bir muramidaz enzimi olup bakteri hücre duvarında bulunan peptidoglikan yapısındaki β-1,4-glikozidik bağını parçalayarak mikroorganizmaların ölümünü sağlar (99). Kongenital bağışıklık sisteminin önemli bir enzimi olan lizozim; tükürük, gözyaşı, insan sütü vb. gibi vücut salgılarında bol miktarda bulunur. Ayrıca periodontitis tedavisinde ve diş çürüklerinin önlenmesi aşamasında oldukça etkilidir (100).

3.8.2.4. Laktoperoksidaz

Hem-peroksidaz enzimler grubunun bir üyesi olan laktoperoksidaz (Lp), meme bezinden genellikle süt ve kolostruma salgılanır. Lp, sütte en bol bulunan glikoproteindir; kromatografik teknikler kullanılarak peynir altı suyundan önemli miktarda izole edilebilir (101). In vitro çalışmalarda, Lp glikoproteinin bakteri, virüs, mantar ve protozoa dahil olmak üzere çok çeşitli mikroorganizmalara karşı aktif rol oynadığı belirlenmiştir (102). Lp, hidrojen peroksit varlığında anyonların ve halojenürlerin peroksidasyonunu katalize ederek, mikrobiyal türlerin büyümesini engeller ya da öldürür. Hipotiyosiyanat anyonu ve diğer bağlı proteinlerin sülfidril (-SH) gruplarının oksidasyonuna neden olarak, bazı mikroorganizmaların büyümesinin inhibisyonunda rol oynar (103).

3.8.3. İnek kolostrumu ve bileşenleri

Doğumdan sonraki ilk 3 günlük süreç kolostrum olup süt oluşum sürecine kadar zamanla azalma eğilimindedir. İnsanlarda kolostrum miktarı çok az üretirken inekler doğumdan sonraki 36 saat süresince yaklaşık olarak 40 litre kolostrum üretmektedirler. Gama globulin yoğunluğuna bakarak ineğin salgılamış olduğu kolostrumun kalitesi belirlenmektedir. Salgılanan ağız sütünün miktar ve özelliği birçok nedene bağlı olarak farklılık göstermektedir. Bu etkenler: ineğin yaşı, ırkı, gebelik süresince beslenme düzeyi, doğum süreci, doğum sayısı gibi değişkenlerdir. Kolostrumda yer alan proteinler, immünoglobulinler ve minerallerin içerikleri değişiklik gösterebilmektedir

(104,105,106,107). İnek kolsotrumda yağ miktarı 70.5 g/L iken, sütteki yağ oranı 57.6 g/L; kolostrumdaki laktoz miktarı 43.9 g/L, sütteki laktoz miktarı 49.9 g/L; kolostrumda Na, K, Cl miktarları sırasıyla 27 mmol/L, 44 mmol, 38 mmol; sütteki Na, K, Cl miktarları sırasıyla 20 mmol/L, 41 mmol, 29 mmol; kolostrumdaki total protein 52 g/L; sütteki total protein 32.5 g/L'dir (108).

3.8.4. Eşek kolostrumu ve bileşenleri

Son yıllarda, inekler dışındaki hayvanların sütlerine olan ilgi giderek artmaktadır (109,110). Protein alerjisi olan bebekler tarafından eşek sütü oldukça tolere edildiğinden, son zamanlarda araştırmacıların daha fazla ilgisini çekmektedir (111). Zengin lizozim içeriğinden dolayı eşek sütü probiyotik içecekler arasında önemli yer alır. Yeni doğan eşek yavruları için kolostrum değerli bir antikor kaynağıdır. Diğer süt kaynaklarına kıyasla kazein miktarı düşük olan eşek kolostrumunda yüksek miktarda lizozim ve laktoferrin bulunması bu kolostrumun antimikrobiyal özellik göstermesini sağlamaktadır (112).

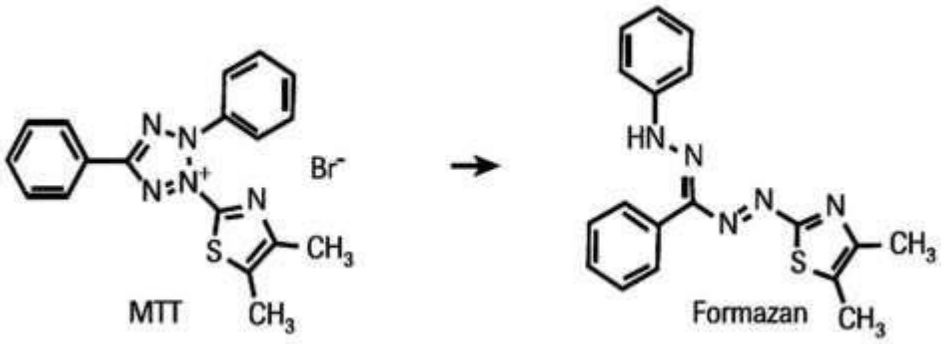
3.8.5. Koyun, keçi kolostrumu ve bileşenleri

Geviş getiren türlerin (inek, koyun ve keçi) yavruları tarafından kolostrum tüketimi, pasif bağışıklık transferinde ve yenidoğanların hayatta kalma oranlarında temel bir role sahiptir (113). Bununla birlikte, vücut immün sisteminde kuzunun bağışıklık düzeyini doğrudan etkiler ve hayvanın mikroorganizmalardan korunmasında önemli bir rol oynar (114). Memelilerdeki kompleman sistemi, özellikle insanlarda ve farelerde olduğu kadar ineklerde ve keçilerde de iyi tanımlanmıştır (115,116). Kolostrum kalitesi; hayvanın yaşı, ırkı, gebelik öncesi beslenme düzeyi, kuruda kalma süresinin uzunluğu, güç doğum, cüsse ve davranışsal etmenler gibi pek çok faktörün etkisi altındadır (117).

3.9. MTT Hücre Canlılık Testi

MTT yöntemi, Mosmann tarafından 1983 yılında ilk kez tanımlamıştır. Bu yöntem hücre canlılığı hakkında fikir verebilen hassas, güvenilir ve kantitatif bir kolorimetrik prensibe dayanır. Çalışma prensibi, canlı hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz konsantrasyonuna göre sarı renkli olan 3-(4,5-dimetil hidrazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromürün koyu mavi renkli formazan kristallerine dönüştürülmesi prensibine dayanmaktadır. Oluşan formazan kristallerinin yoğunluğu ve çalışılan

hücre hattının canlı hücre sayısı ile orantılı olarak kantitatif değer elde edilmektedir. Böylece farklı hücre tiplerinde mitokondriyal dehidrogenaz aktivitesi belirlenir. Mikroskopta incelendiğinde canlı hücreler küçük ve yuvarlağımsı gözükürken, ölü hücreler mitokondriyal işlevini yitirmesinden dolayı cansız koyu mavi olarak gözükürler (Şekil 2.) (118).



Şekil 2. MTT'nin Formazan kristallerine dönüşümü (118).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Gereç

4.1.1. Cihazlar ve malzemeler

- İnvert Mikroskop (Olympus CX 31, Japonya)
- CO2 inkubatör (Thermo)
- Görüntüleme Sistemi (Bıo-Rad, ABD)
- Soğutmalı Santrifüj
- Elisa Reader (Thermo Scientific)
- Vortex (Stuart, Almanya)
- Mikropipet (Thermo Scientific, Almanya)
- Şarjlı pipet (Brand)
- 30 kda Ultrafiltrasyon Membranı (Sartorius, Almanya)
- 10 kda Ultrafiltrasyon Membranı (Sartorius, Almanya)
- 5 kda Ultrafiltrasyon Membranı (Sartorius, Almanya)
- 0.22 um Mikrofiltrasyon Membranı (İsviçre)
- Jel Elektroforezi (Bıo-Rad, ABD)
- Vakum Pompası Millipore
- Liyofilizatör CHRIST Alpha 1-2 LDplus
- Peristaltik Pompa, Çin
- Steril pipet uçları
- Lam ve lamel
- Ph Metre
- -80 ^{o}C derin dondurucu (Thermo)
- Su banyosu (Benmari)

- Class II steril kabin (laminar flow, Thermo)
- Otoklav (Thermo Scientific OG180, Japonya)
- Mezür
- Ependorf, Lam ve lamel
- Plastik Rezervuar
- Hassas Terazi (Mettler, İsviçre)

4.1.2. Kimyasal ve solüsyonlar

- NaOH (Sodyum Hidroksit)
- Serolojik steril pipet, 10 ml Biosigma
- 96 kuyucuklu Steril Plate Interlab
- Steril 15 ml lik tüpler Falcon
- Steril 50 ml lik tüpler Falcon
- Steril flasklar (T-25 ve T-75) Falcon
- Triton X-100
- Serolojik steril pipet, 5 ml Biosigma
- Bovine Serum Albumin Sigma
- RPMI-1640 (500 ml) Sigma
- DMEM Medium Sigma
- DPBS (500 ml) Sigma
- Penisilin – Streptomisin Sigma
- L-Glutamin (100 ml) Sigma
- Fetal Bovine Serum Serox
- % 0,25 Tripsin-Edta Sıgma
- Cryo tüp 2ml Interlab
- Serolojik steril pipet, 25 ml Biosigma

- Sodyum dodesil sülfat–poliakrilamid
- Fosfat buffer salin (PBS) Biowest
- Thoma Lamı Superior
- Mikro santrifüj tüp 2 ml Isolab
- Steril pipet ucu 10 µl Isolab
- Steril pipet ucu 50 µl Isolab
- Steril pipet ucu 100 µl Isolab
- Trypan Blue Sigma
- Etil Alkol (etanol): Riedel
- Tiyazol Blue Tetrazolyum Bromid (MTT) M5655-1G
- Dimetilsülfoksit D4540 Merck
- Bisinkoninik asit kolorimetrik tahlil (BCA), Biorad

4.2. Yöntem

4.2.1. Kolostrum örneklerinin toplanması

Çalışmada kullanılan kolostrum numuneleri 2020 yılı Temmuz-Aralık dönemlerinde Diyarbakır ilinin Ergani, Çermik, Çüngüş ve Hani ilçelerindeki 4 farklı çiftlikten yeni doğum yapmış inek (Güney Doğu Anadolu Kırmızısı), koyun (Akkaraman), keçi (Kıl keçisi) ve eşeklerden (Anadolu eşeği veya *equus assinus*) hijyenik koşullar altında temin edildi. Çalışmada kullanılan inek, koyun, keçi ve eşek kolostrumları doğumu takiben inek kolostrumu 1. günde diğer hayvan kolostrumları 3. günlerde sağımı yapılarak temin edildi. Sütler soğuk zincir ile laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler laboratuvara ulaştırıldıktan sonra 50 cc'lik steril falkon tüplere porsiyonlandı. Kolostrum numunelerine 60^{o}C'de 5 dakika su banyosunda ısıl işlem uygulandı. Numuneler çalışma yapılana kadar derin dondurucuda (-30 ^{o}C) saklandı.

4.2.2. Kolostrum örneklerinin fraksiyonlarına ayrılması

Çalışma, Dicle Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarında yürütüldü. İnek, koyun, keçi ve eşek kolostrum numunelerinin derin dondurucudan çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında çözülmeleri sağlandı. Çözünen

numuneler 15 cc'lik steril falkon tüplere aktarıldı. Kolostrumdaki yağı arındırmak amacıyla 4000g'de 30 dakika 15ºC'de santrifüj edildi. İzoelektrik noktadan yararlanılarak inek, koyun, keçi ve eşek kolostrum numuneleri whey (laktoferrin, lizozim, β-laktoglobulin, α-laktalbümin, immünoglobulinler ve serum albümin) ve kazein (α_1 -, α_2 -, β- ve κ-) proteinleri şeklinde fraksiyonlarına ayrıldı (119).

4.2.2.1. Whey protein eldesi

Yağdan arındırılmış kolostrum numunelerine 1M NaOH ilave edilerek pH:7,6'ya ayarlandı. Ardından 4000g'de 30 dakika 15ºC'de santrifüj edilerek süpernatantdan peynir altı suyu proteini elde edildi. Üstteki süpernatant yani whey proteini pipet yardımıyla aspire edilerek steril falkon tüpe alındı. Çalışma yapılana kadar derin dondurucuda (-80 ºC) saklandı (120).

4.2.2.2. Kazein protein eldesi

Yağdan arındırılmış kolostrum numunelerine 1N HCl ilave edilerek pH:4,6'ya ayarlandı. Asit eklenen yağsız kolostrum 4000g'de 30 dakika 15ºC'de santrifüj edilerek pelletten kazein proteini elde edildi. Üstteki süpernatant pipet yardımıyla aspire edildi, dipteki çökelek yani kazein steril falkon tüpe alındı. Çalışma yapılana kadar derin dondurucuda (-80 ºC) saklandı (120).

4.2.2.3. Whey proteinin 30 kda membran filtrasyonu ile fraksiyonlarına ayrılması

İnek, koyun, keçi ve eşek kolostrum numuneleri 1M NaOH ilave edilerek pH:7,6' ya ayarlandıktan sonra santrifüj edilerek whey proteini elde edildi. 30 kda Ultrafiltrasyon Membranı (Sartorius, Almanya) peristaltik pompadan yararlanılarak whey proteininde yer alan β-laktoglobulin, α-laktalbumin, serum albümin, laktoferrin ve lizozim proteinleri konsantre olarak elde edildi. Çalışma sürecine kadar derin dondurucuda (-80 ºC) muhafaza edildi (119).

4.2.3. Whey ve kazein proteinlerini yıkama işlemi

Elde edilen Whey proteinlerinden alınan hacmin 3 katı Fosfat Buffer Saline (PBS) ilave edilip 4000g'de 10 dakika 15ºC'de santrifüj edildi. Kazein proteini 25 ml'lik PBS ile homojenize edilerek alınan hacmin 3 katı PBS ilave edilip 4000g'de 10 dakika 15ºC'de santrifüj edildi. Bu yıkama işlemi 3 defa tekrarlandı. Böylece whey ve kazein

proteinlerinin yağdan, karbonhidrattan ve laktozdan mümkün olduğunca ayrılması sağlandı (121).

4.2.4. Whey ve kazein proteinlerinin steril edilmesi

Yıkama işleminden sonra whey ve kazein proteinleri Millipore markalı vakum pompası yardımıyla 0.22 um mikrofiltrasyon membran filtreden geçirilerek mikroorganizmalardan arındırılması sağlandı. Whey proteini mikroorganizmalardan arındırdıktan sonra 30 kda, 10 kda ve 5 kda ultrafiltrasyon membranlardan geçirilerek whey proteininde bulunan beta-laktoglobulin, alfa-laktalbümin, sığır serum albümin, laktoferrin ve lizozimler konsantre olarak elde edildi. Whey ve kazein proteinleri 0.22 um Mikrofiltrasyon Membran filtreden geçirildikten sonra mikroorganizmalardan arındırıldığını kontrol etmek amacıyla Plaka Sayısı Agar (PCA) ile Violet Red Bile Lactose Agar (VRBLA) bakteri sayımları yapıldı.

4.2.4.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısının belirlenmesi

Plate Count Agar (PCA) (500 ml) üretici firma talimatlarına göre (güvelik kabininde steril ortamda) hazırlandıktan sonra otoklavda steril edildi. 0.22 um mikrofiltrasyon membran filtreden geçirilen whey ve kazein proteinlerinden (10^0) ve 10^{-1} dilüsyonları hazırlanarak bu dilüsyonlardan 1 ml alınarak steril petrilere aktarıldı. Bu işlemin ardından 47 °C'ye soğutulmuş PCA besiyeri dökme plak prensibine göre petri kutularına ilave edildi ve homojen karışımın sağlanabilmesi için tezgâh üzerinden dairesel hareketlerle karıştırıldı. İnkübasyon sonrası (37 °C'de 24 saat) besiyerin de koloniler gelişip gelişmediği kontrol edildi. Herhangi bir üreme gözlenmedi.

4.2.4.2. Koliform grubu bakteri sayısının belirlenmesi yöntemi

Whey ve kazein proteinlerinden (10^0) ve 10^{-1} şeklinde dilüsyonlardan 1 ml alınarak steril petri kutularına aktarıldı. Violet Red Bile Agar (VRBA,Merck) yaklaşık 12,5-15 ml besiyeri ilave edildikten sonra kuruma işlemi yapıldı. Kuruma işlemi bittikten sonra VRBLA 4 ml daha ilave edildi ve homojen karışımın sağlanabilmesi için tezgah üzerinde dairesel hareketlerle karıştırılarak dökme plak protokolüne göre ekim gerçekleştirildi. İnkübasyon (37 °C'de 24-48) saat sonunda mor menekşe-kırmızı renkte koloniler gelişip gelişmediği kontrol edildi. Herhangi bir üreme gözlenmedi.

4.2.5. Kolostrum örneklerinin liyofilizasyonu

Konsantre olarak elde edilen whey ve kazein proteinleri 50 cc'lik steril falkon tüplere 20 ml olacak şekilde eklendi. Falkon tüplerin üzeri süzgeç kâğıdıyla kapatılıp bir gece -80 ºC'de bekletildi.

Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Laboratuvarı'na getirilen dondurulmuş örnekler Chrıst Freezone markalı liyofilizatör cihazında kurutuldu. Liyofilizasyon dondurarak kurutma işlemi donmuş halde bulunan numuneler -50^{0}C'de 0,070 hPa (hektopaskal) basınç uygulayarak numune içerisindeki suyun uzaklaştırılması işlemidir. 96 saatlik liyafilizasyon işlemi sonrasında tamamiyle toz haline gelen kolostrum örnekleri çalışılacağı zamana kadar -80ºC 'de muhafaza edildi (Resim 1).



Resim 1. Numunelerin liyofilize edilmesi

4.2.6. Protein konsantrasyonlarının belirlenmesi

Elektroforez öncesinde örneklerdeki total protein konsantrasyonlarını bisinkoninik asit kolorimetrik tahlil (BCA, Bıo-Rad, ABD) metoduna göre ölçüldü.

Protein konsantrasyonunu belirlemek amacıyla kitin içerisinde bulunan 7 adet standart 4 °C'den çıkarılıp çalışma öncesi oda sıcaklığında bekletildi. 10 ul örneğe 40 ul PBS eklenerek 1/5 oranında dilüsyon edildi. Çalkalama yapıldı ve 96 well kuyucuklara önce 7 adet standartlar eklendi ve sonrasında sırasıyla 20 ul örneklerden iki tekrar olacak şekilde eklendi. A ve B şeklinde kitte bulunan yardımcı solüsyonlar steril falkon tüpte hazırlandıktan sonra 160 ul standart kuyucuklarda dahil tüm kuyucuklara ilave edildi. Alümiyum folyo ile plate kapatılıp etüvde 37 ^{0}C'de 30 dakika süreliğine inkübe edidi. Ardından Elisa Reader Thermo Scientific cihazında 562 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü.

4.2.7. Whey ve kazein proteinlerinin elektroforezi

Numunelerimizde bulunan proteinleri belirlemek amacıyla SDS-PAGE (sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez) elektroforez işlemi uygulandı.

Protein çalışmalarında SDS-PAGE en yaygın tercih edilen elektroforez çeşitlerinden biridir ve akrilamid jelde elektrik akımı yardımıyla mevcut proteinlerin molekül ağırlıklarına göre hareket ettirilmesi prensibine dayanan bu yöntem proteinlerin jeldeki bantların görsel olarak tespit edilmesini sağlayan bir yöntemdir. Poliakrilamid jeller, küçük moleküllerin büyük moleküllere oranla daha hızlı hareket etmelerine neden olur. SDS anyon yüklü bir deterjandır ve geniş bir pH aralığında net negatif yüke sahiptir. SDS'de bulunan negatif yük, proteinlerin yapısını etki eder ve kuvvetle elektriksel alanda molekül ağırlıklarına göre anoda yönelir. Bu yönelme farklı kda büyüklüklerine sahip proteinlerin birbirinden ayrılması sonucunda gerçekleşir.

SDS-PAGE, Bio-Rad Sistemi kullanılarak (Lot No.161-0183) kitle çalışıldı. Kolostrum numuneleri (1:5 v/v) oranında dilüe edildi. Numuneler hazır hale getirildikten sonra SDS-PAGE jeli hazırlamak amacıyla (%1 SDS, 1 mM EDTA , %0.01 bromofenol mavisi ve 0.05 M Tris·HCl tamponu pH 6.8) %30 gliserin ile karıştırıldı ve %5 β-merkaptoetanol ilave edildikten sonra, 95°C'de 5 dakika süreyle ısıtıldı. Daha önce BCA yöntemiyle numunelerdeki total protein konsantrasyonu belirlenip bulundu. Bu oranlara göre SDS jeldeki kuyucuklara sırasıyla örneklerin yüklemesi yapıldı. İlk kuyucuğa Bio-Rad kitte bulunan marker yüklendi. Yükleme sonrasında 200V 40 dakika yürütme işlemi yapıldı (Jel Elektroforezi Bıo- Rad). Jel

yürütme işlemi sona erdikten sonra jel dikkatli bir şekilde jelatine alındı. Ardından jel görüntüleme cihazı (Bıo-Rad) ile görüntüleme alındı (Resim 2).



Resim 2. SDS-PAGE elektroforezi jel yürütme işlemi

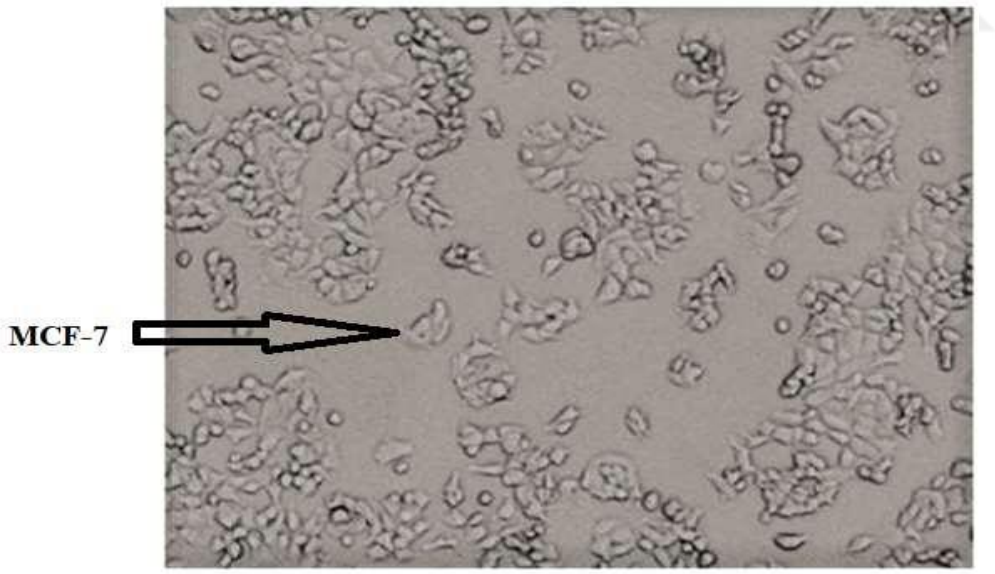
4.2.8. Hücre hatlarının hazırlanması

Çalışmamızda inek, koyun, keçi ve eşek gibi farklı türlerin kolostrumlarının izoelektrik noktalarından yararlanılarak fraksiyonlarınlarından elde edilen whey ve kazein proteinlerinin farklı doz ve sürelerde in vitro ortamda tümörlü hücrelere karşı antikanser etkilerini araştırmak ve mekanizmasını belirlemek üzere A549 ve MCF-7 hücre hatları kullanılmıştır. Hücre hatlarından olan A549 ve MCF-7 Dicle Üniversitesi Bilim Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Laboratuvarı'ndan temin edilmiş ve hücre kültürü çalışmaları bu laboratuvarda yürütülmüştür.

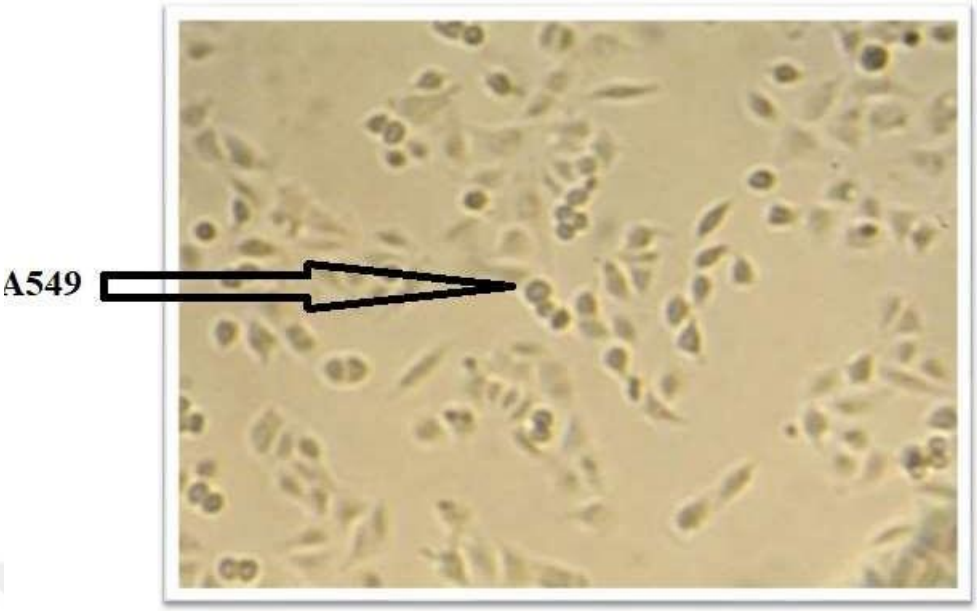
Besiyerinin hazırlanması: 500ml'lik RPMI-1640 ve DMEM Medium üzerine; 50 ml FBS, 5 ml Penisilin – Streptomisin laminar güvenlik kabinde eklendi ve besiyeri şişesi 1-2 kez hafifçe çalkalanarak tam olarak homojenize edildi ve böylece deneylerde kullanılacak besiyeri hazırlanmış oldu.

Kriyotüp içinde muhafaza edilen hücrelerin 37^0C'deki steril su banyosunda çözülmesi beklendi ve kriyotüplerde oluşalabilecek bir kontaminasyonu önlemek amacıyla %70'lik alkolle silinip steril edildikten sonra laminar akımlı kabine alındı.

Hücreler hafifçe pipetleme yapılarak homojenize edildi. Homojen haline gelen karışım %20 (50 ml) Fetal Bovine Serum (FBS) (Sigma-Aldrich, USA), %1 (5 ml) Penisilin/Streptomisin (Sigma-Aldrich, USA), MCF-7 hücre hattı için 2,2 g/L Sodyum bikarbonat içeren Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM) medyum, A549 hücre hattı için ise Roswell Park Memorial Institute (RPMI) medyum (pH 7) (Sigma-Aldrich, USA) besiyerleri kullanıldı. Steril falkon tüpteki hücre 3.500 rpm devirde 6 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında tüp alkolle silinerek laminar akımlı güvenlikli kabine alındı. Steril falkon tüpte bulunan süpernant pipet yardımıyla aspire edilerek alındı, dibte kalan pellet kısmına MCF-7 hücre hattı için %20 fetal bovine serum (FBS), %1 penisilin/streptomisin içeren DMEM besiyeri, A549 hücre hattı için ise RPMI besiyeri eklenerek homojen hale getirildi. MCF-7 hücre ve A549 hücre kültür besiyerinin olduğu 25 cm^2'lik steril hücre üretme kabına (flasklara) alındı. Flask 37^oC deki %5 CO_2 ihtiva eden inkübatöre koyuldu. Flasklar her gün invert mikroskop altında kontrol edilerek mediumları değiştirildi, konfluent duruma geçtiğinde pasajlanarak çoğaltıldı (Resim 3 ve Resim 4).



Resim 3. Meme kanser hücresi (MCF-7), invert mikroskop (10 x 40)



Resim 4. Akciğer kanser hücresi (A549), invert mikroskop (10 x 40)

4.2.9. Mcf-7 ve A549 hücrelerin pasajlanması

Hücrelerin pasajlanma (subkültüre) işlemlerini yapmak amacıyla, 25 cm^2'lik flasklar inkübatörden alınarak alkolle silinmiş laminar akımlı güvenlik kabine alındı. DMEM ve RPMI besiyerleri (medium) pipet vasıtasıyla ortamdan uzaklaştırıldı.

Hücre ve DMSO artıklarının ortamdan uzaklaştırılmak amacıyla flaska 10 ml PBS eklendi. PBS pipet yardımıyla aspire edilerek 3 ml tripsin EDTA solüsyonu serolojik pipet yardımıyla ilave edildi. Tripsin EDTA yavaşça eklendikten sonra flasklar inkübatöre alınarak 4-5 dakika bekletildi. İnkübatörden çıkarılan flasklar invert mikroskop yardımıyla hücrelerin kültür kabından ayrıldığı gözlemlendikten sonra flasklara besi yeri ilave edildi, hücreler steril falkon tüpe alınarak 6 dakika 3500 RPM'de santrifüj edildi. Süpernatant aspire edildi, Mcf-7 hücre hattı için pellet kısmına DMEM besiyeri, A549 hücre hattı için ise RPMI besiyeri eklenerek homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi sonrası 75 cm^2 lik hücre kültür kaplarına hücreler alınarak inkübatöre konuldu.

4.2.10. Mcf-7 ve A549 hücrelerin dondurulması

Stoklanma amacıyla Mcf-7 ve A549 hücreleri pasajlandı. Pasajlama sonrasında santrifüj edilerek hücreler steril falkon tüpte toplandı. Falkon tüpteki medium aspire

edildi. Ayrı bir steril tüpe %20 FBS (Sigma-Aldrich, USA) ve %10 dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma-Aldrich, USA) içeren DMEM ve RPMI besiyerleri ilave edilerek hücreler çözüldü. Ardından steril kriyovellere 1,5 ml hücreler eklenerek kapakları kapatıldı. Kriyovel üzerine hücrenin ismi, pasaj sayısı ve tarih yazıldı. Propil alkol içeren kaba dikkatlice kriyovel konarak bir gün süreyle -20^{o}C'de bekletildikten sonra -80^{o}C'de 6 ay süreliğine muhafaza edildi.

4.2.11. Mcf-7 ve A549 hücrelerin optimize edilmesi

Çalışmamızda 96 kuyucuklu plaklarda ekeceğimiz hücre sayısını belirlemek amacıyla optimize işlemi yapıldı. Önce MCF-7 hücre hattı için 3.000, 5.000, 7.000 ve 10.000 hücre olacak şekilde ekimler yapıldı. 24, 48 ve 72 saat sürelerde 37^{o}C deki %5 CO_2 ihtiva eden inkübatöre bırakıldı. İnkübasyon sonrası Elisa Reader Thermo Scientific cihazında 540 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü. Absorbans değerleri 1,5-2 aralığında olan ölçümler optimum hücre sayısı 3.000 olarak belirlendi.

A549 hücre hattı için ise, 3.000, 5.000, 7.000 ve 10.000 hücre olacak şekilde ekimler yapıldı. 24, 48 ve 72 saat gibi farklı sürelerde inkübe edildi. Elisa Reader Thermo Scientific cihazında 540 nm dalga boyunda absorbans ölçüldü. Absorbans değerleri 1,5-2 aralığında olan ölçümler optimum hücre sayısı 5.000 olarak belirlendi.

4.2.12. Hücre sayısının belirlenmesi

MCF-7 ve A549 hücreleri 75 cm^2 steril flasklarda %70-80 oranında yoğunluğa ulaştıktan sonra hücreler 4-5 ml tripsin ile muamele edildi. Hücre kültür kabından hücrelerin ayrılması sağlanarak 15 ml'lik steri falkon tüpüne alınıp 6 dakika 3500 rpm'de santifüj işlemi uygulandı. Santrifüj sonrası 4 ml besiyeri homojenize edilip 50 ul steril ependorfa alındı. Ependorftan 10 µl karışım, 10 ul Tripan Blue boyası ependorfta homojenize edilip karışımdan 10 µl alınarak Thoma lamında sayım yapıldı. Tripan Blue ile boyama sonrasında ölü hücreler membran yapısı bozulduğundan mavi-lacivert renk şeklinde, içerisine boyayı almayan canlı hücreler ise renksiz gözlemlendi. Tripan Blue boyaması sayesinde canlı ya da ölü hücre sayıları birbirinden ayırt edildi.

Çalışmamızda, hücre canlılık analizlerinden biri olan MTT testi tercih edildi. MTT analizinin temel prensibi, canlı hücreler vasitasıyla MTT'nin formazon kristallerine indirgenmesi esasına bu işlem dayanır, mitokondriyal aktiviteyi belirlemek amacıyla uygulanır.

İnek, koyun, keçi ve eşek gibi farklı türlerin whey, kazein ve 30kda konsantre whey proteinlerinin sitotoksisite düzeyini belirlemek üzere MTT testi 96 kuyucuklu plaklarda gerçekleştirildi. Tripsine maruz bırakılan hücreler santrifüj sonrasında sayıldı ve her kuyucuğa MCF hücre için $3x10^3$ hücre sayısında 90 ul hacimde, A549 hücre hattı için ise $5x10^3$ hücre sayısından 90 ul olacak şekilde her kuyucuğa eşit miktarlarda hücre ekimi yapıldı. Hücre ekimi yapılan steril 96 kuyucuklu plakalar 24 saat 37^{o}C lik %5 CO_2 içeren inkübatöre bırakıldı. Süre sonrasında hücrelerin 96 kuyucuklu plakalara yapışıp yapışmadığı invert mikroskopta kontrol edildi. İnek, koyun, keçi ve eşek kazein proteini 0.032 gr hassas terazide tartılıp %1'lik DMSO'da (1ml) çözüldü. İnek, koyun, keçi ve eşek whey proteini ise 0.064 gr hassas terazide tartılıp %1'lik PBS'de (1ml) çözüldü. Tamamiyle homojenize edldikten sonra seri dilüsyonla steril ependorf tüplerde farklı konsantrasyonlarda laminar akımlı güvenlik kabinde hazırlandı. Whey ve kazein proteinlerinden 6.400 µg/ml, 3.200 µg/ml, 1.600 µg/ml, 800 µg/ml ve 400 µg/ml dozunda alacak şekilde seri dilüsyonla 10 µl her kuyucuğa eşit miktarlarda olacak şekilde 96 kuyucuklu plakalara eklendi. Çalışma öncesinde 0.2 µm lik filtreden örnekler geçirildi. Kontrol kuyucuğuna herhangi bir numune eklenmedi. Ardından 24, 48 ve 72 saat gibi farklı sürelerle inkübasyon işlemi yapıldı. İnkübasyon sonrası 10 µl MTT çözeltisi (5 mg/ml) steril kuyucuklara eklenerek 3 saat 37 ^{o}C lik %5 CO_2 içeren inkübatörde bekletildi. İnkübatör sonrası formazon kristallerinin çözmek amacıyla kuyucuklara çoklu pipet yardımıyla 100 µl DMSO eklendi ve 96 kuyucuklu plak üzeri alüminyum folyo ile kapatılıp 10 dakika shaker yapıldı. Süre sonunda mikroplate okuyucuda (570 nm) absorbans ölçüldü. Uygulanan protokol 48 ve 72 saat içinde uygulanıp absorbanslar elde edildi.

Sadece besiyerlerin bırakıldığı ilk kuyucuklar kontrol grubu olup hücrelerin canlılığı %100 olarak kabul edildi. Hücrelere ait yüzde canlılık oranları aşağıda belirtilen formül ile bulundu;

% canlı hücre = Farklı konsantrasyonlarda uygulanan örneklerin hücre absorbansı / Kontrol hücre absorbansı × 100

4.2.13. IL-2, IL-6 ve TNF-α sitokin düzeylerinin belirlenmesi

Farklı hayvan türlerinden elde edilen whey proteinlerdeki sitokin düzeylerini belirleme işlemi, Sandwich ELISA" (Kit No 202011017) test kitleri ile

gerçekleştirildi. Kitler, katı fazlı sandviç enzim bağlantılı immünosorbent assay (ELISA) ile hayatta kalma prensibine dayanan endojen seviyelerini tespit etmek amacıyla gerekli reaktifleri sağlamakta ve bu amaçla kullanılmaktadır.

Sandviç ELISA testi, mikro düzeyde kuyucukların üzerinde yer alan yakalama antikorun hedef proteini yakalanarak bu hedef proteini tespit etmek için tespit antikorunun eklenmesi, tespit antikorunun HRP (horseradish peroxidase) bağlı sekonder antikor ile belirlenip HRP substratı ile renk değişiminin 450 nm dalga boyunda ölçülmesi prensibine dayanır. Meydana gelen renk, absorbans değeri bağlanmış hedef protein miktarıyla doğru orantılıdır. Sandviç ELISA metodunun en önemli avantajı yüksek hassasiyet sağlamasının yanında doğrudan veya dolaylı ELISA metodlarına göre 2-5 kat daha yüksek hassasiyet göstermesidir.

4.2.14. Test protokolü

Önceden elde edilen whey protein serumlarının -80^{o}C'de dondurucudan çıkartılıp oda sıcaklığında çözülmesi sağlandı. Çözündükten sonra 5 adet ependorf tüplerde standartlar hazırlandı. Her ependorf tüpe 120 µl standart dilüent konuldu. Son ependorf tüpten başlanarak standart solüsyonla seri dilüsyon yapıldı. Plate 1 numarası kör olarak belirlendi. Seri dilüsyonla hazırlanan standartlardan 50 µl eklendi. Oda sıcaklığında çözünen numunelerden 40 µl ve takiben antibody eklenerek 50 µl streptavidin-HRP ilave edildi (örneklere ve standart kuyucuklara eklenir, köre eklenmemiştir). Üzeri jelatinle kapatılıp 37^{o}C'de 1 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Yıkama solüsyonu olan wash buffer ile 5 defa yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işleminde 300 µl solüsyon çoklu pipet yardımıyla kuyucuklara eklendi, 1 dakika sonra plate ters çevirilip yıkama solüsyonu boşaltıldı. Karanlık ortamda her kuyucuğa 50 µl substrat A ve substrat B eklendi. Plate üzeri jelatinle kapatılıp 37^{o}C'de 10 dakika inkübasyona tabi tutuldu. 50 µl stop solüsyonu eklendikten sonra mavi renk sarıya döndü. 10 dakika içerisinde 450 nm dalga boyunda mikroplate okuyucuda absorbans ölçüldü.

4.3. İstatistik Analiz

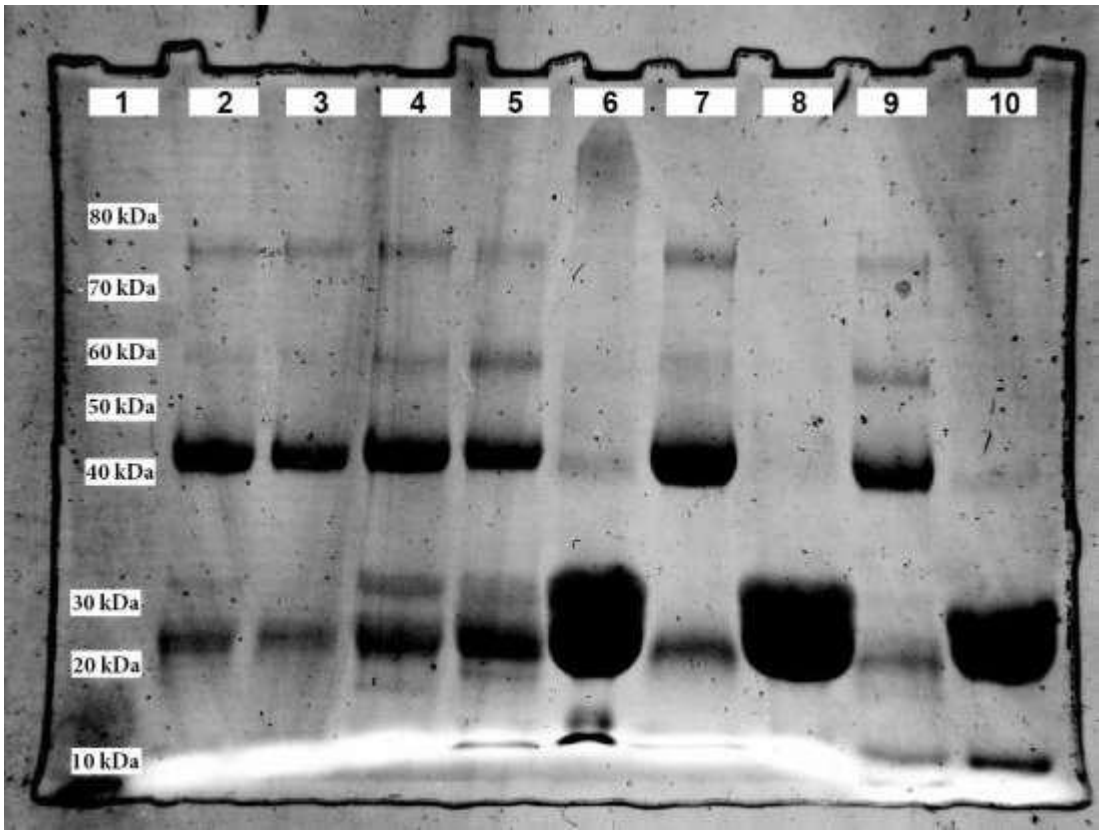
Bu çalışmada yer alan gruplar üç tekrar halinde gerçekleştirildi ve çalışma sonrasındaki verilerin ortalaması grafiklerde gösterilip, hesaplama sonucunda standart sapmalar ile birlikte gösterildi. Çalışmada elde edilen nicel veriler Post-hoc analiz ile aritmetik ortalama±standart sapma olarak ifade edildi. Çalışmayla ilgili grafiklerin

sonuçları Graphpad Prism 8 programı (GraphPad Software, http://www.graphpad.com) ile elde edildi. MTT çalımasının istatistik analizleri SPSS 22 yazılımı kullanılarak bilgisayarda gerçekleştirildi. MTT yönteminde çalışılan gruplar arasındaki farkları belirlemek için Twoway ANOVA testi yapıldı. Farklı gruplardaki anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ göre belirlendi.

5. BULGULAR

5.1. Whey ve Kazeinin SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sülfat–Poliakrilamid Jel Elektroforez) Sonucu

Numunemizdeki proteinleri belirlemek üzere SDS-PAGE elektroforez işlemi uygulandı. Bio-Rad kitte bulunan marker belirteç olarak kullanıldı. Elde edilen SDS-PAGE jel görüntüsü şekil 3'de verildi.



Şekil 3. SDS-PAGE jelin görüntüsü. 1. Kitte bulunan marker belirteç; 2.Elüsyon İnek whey proteini; 3. İnek whey 30kda proteini; 4. Eşek whey proteini; 5. Eşek whey 30kda proteini; 6.İnek kazein proteini; 7. Koyun whey proteini; 8. Eşek kazein proteini; 9. Keçi whey proteini; 10. Keçi kazein proteini.

5.2. A549 ve MCF-7 Hücre Hatlarında MTT Hücre Canlılık Testi Bulguları

Kolostrum numunelerden elde edilen whey ve kazein proteinlerinin liyofilizasyon işleminden sonra 6.400µg/ml yüksek dozdan, düşük doza doğru hazırlanan seri

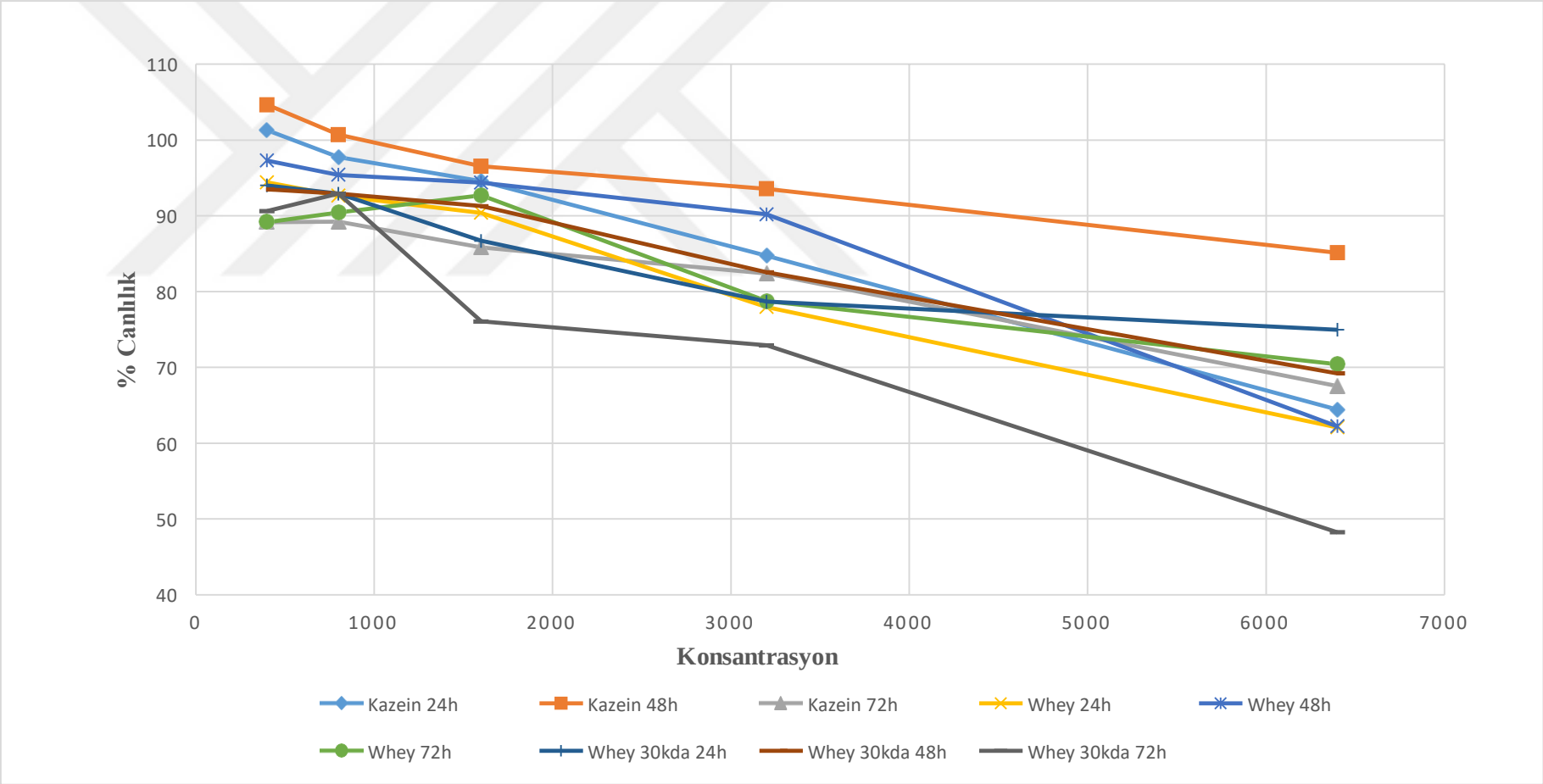
dilüsyonlar ile inkübe edildi. A549 ve MCF-7 hücre hatlarıyla üç tekrar yapılarak, antiproliferatif etkileri, canlılık değişimleri proliferasyon ve sitotoksisite belirleme yöntemlerinin başında gelen MTT testi ile analiz edildi. Whey ve kazein proteinleri uygulanmayan grup, kontrol grubu olup (NT) canlılık oranı %100 olarak kabul edildi. Whey, whey 30kda ve kazein örneklerinin canlılık değerleri mikroplate okuyucuda (570 nm) absorbans ölçümü ile orantısal olarak hesaplanmasıyla belirlendi.

MTT testi çalışma sonucu elde edilen verilerden canlılık yüzdeleri ve standart sapma miktarları belirlendi. Bunun yanısıra verilerden, tümörlü hücrelerin %50'sinde büyümeyi inhibe etki konsantrasyon olan IC50 değeri ve R^2 (korelasyon katsayısı) değerleri excel programı kullanılarak belirlendi.

A549 kanser hücre hattında eşek kazein proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 8.788 µg/ml, R^2= 0,997*;* eşek kazein 48 saatte bulunan IC50 değeri 17.833 ug/ml, R^2 = 0,95; eşek kazein 72 saatte bulunan IC50 değeri 11.637 µg/ml, R^2= 0,976 olarak belirlendi.

A549 kanser hücre hattında eşek whey proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 8.592 µg/ml, R^2= 0,990*;* eşek whey 48 saatte bulunan IC50 değeri 9.149 µg/ml, R^2 = 0,924; eşek whey 72 saatte bulunan IC50 değeri 12.024 µg/ml, R^2= 0,879 belirlendi.

A549 kanser hücre hattında eşek whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 13.186 µg/ml, R^2= 0,878*;* eşek whey 48 saatte bulunan IC50 değeri 6.164 µg/ml, R^2 = 0,714; eşek whey 72 saatte bulunan IC50 değeri 6.175 µg/ml, R^2= 0,947 olarak belirlendi (Şekil 4).

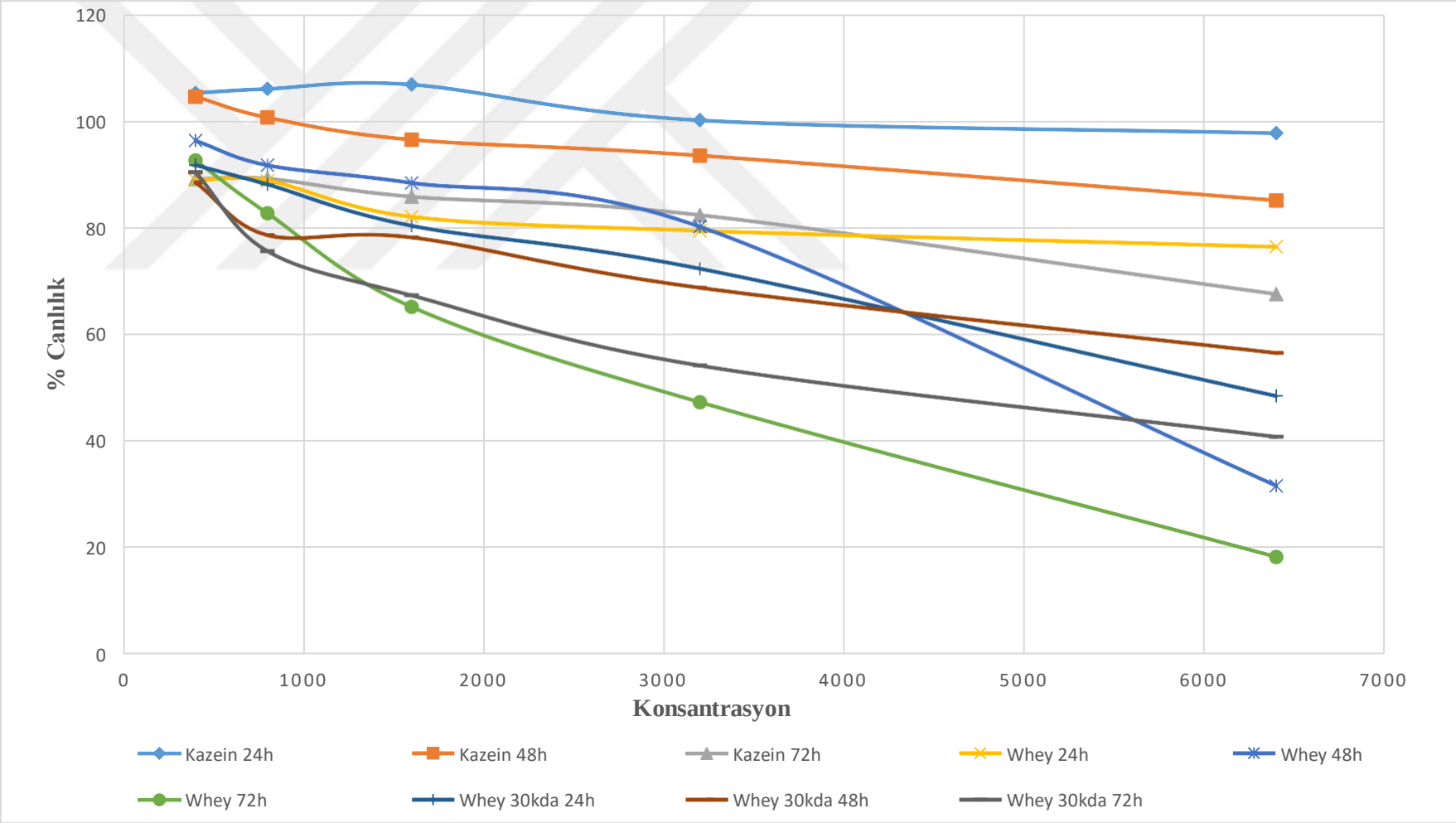


Şekil 4. Eşek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları

MCF-7 kanser hücre hattında eşek kazein proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 38.006 µg/ml, R^2= 0,836*;* eşek kazein 48 saatte bulunan IC50 değeri 31.800 µg/ml, R^2 = 0,75; eşek kazein 72 saatte bulunan IC50 değeri 16.303 µg/ml, R^2= 0,962 olarak belirlendi.

MCF-7 kanser hücre hattında eşek whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 8.716 µg/ml, R^2= 0,983*;* eşek whey 30kda 48 saatte bulunan IC50 değeri 7.502 µg/ml, R^2 = 0,935; eşek whey 30kda 72 saatte bulunan IC50 değeri 4.589 µg/ml, R^2= 0,882 olarak belirlendi.

MCF-7 kanser hücre hattında eşek whey 24 saatte IC50 değeri 18.250 µg/ml, R^2 = 0,822; 48 saatte bulunan IC50 değeri 5.125 µg/ml, R^2 = 0,945; eşek whey 72 saatte bulunan IC50 değeri 3.424 µg/ml, R^2= 0,962 olarak belirlendi (Şekil 5).

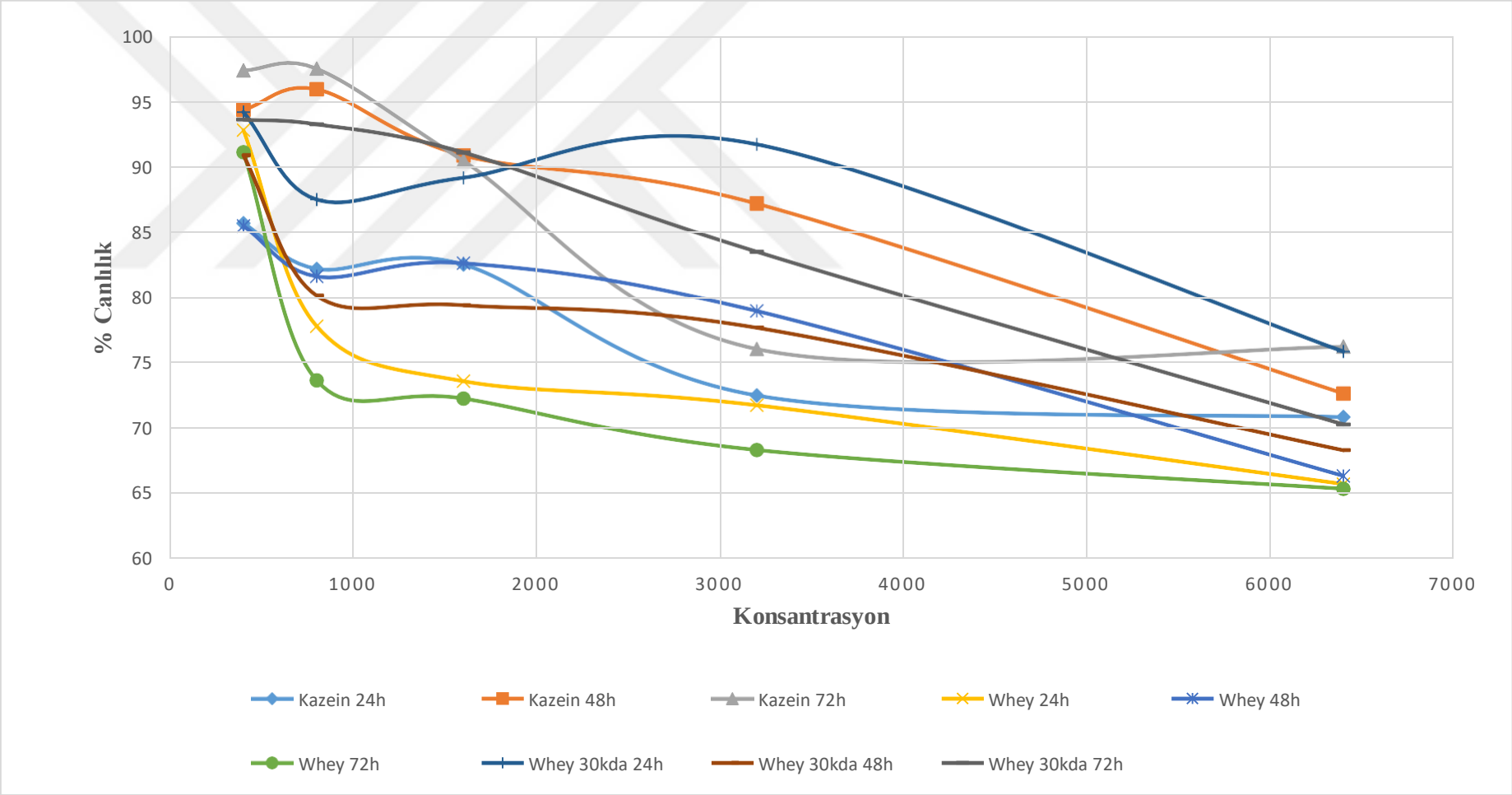


Şekil 5. Eşek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları

A549 kanser hücre hattında inek kazein proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 13.953 µg/ml, R^2= 0,832*;* inek kazein 48 saatte bulunan IC50 değeri 12.516 µg/ml, R^2 = 0,975; inek kazein 72 saatte bulunan IC50 değeri 12.089 µg/ml, R^2= 0,771 olarak belirlendi.

A549 kanser hücre hattında inek whey proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 10.531 µg/ml, R^2= 0,532*;* 48 saatte bulunan IC50 değeri 12.118 µg/ml, R^2 = 0,944; 72 saatte bulunan IC50 değeri 10.525 µg/ml, R^2= 0,532 olarak belirlendi.

A549 kanser hücre hattında inek whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 18.214 µg/ml, R^2= 0,703*;* 48 saatte bulunan IC50 değeri 16.741 µg/ml, R^2 = 0,505; 72 saatte bulunan IC50 değeri 11.583 µg/ml, R^2= 0,992 olarak belirlendi. (Şekil 6).

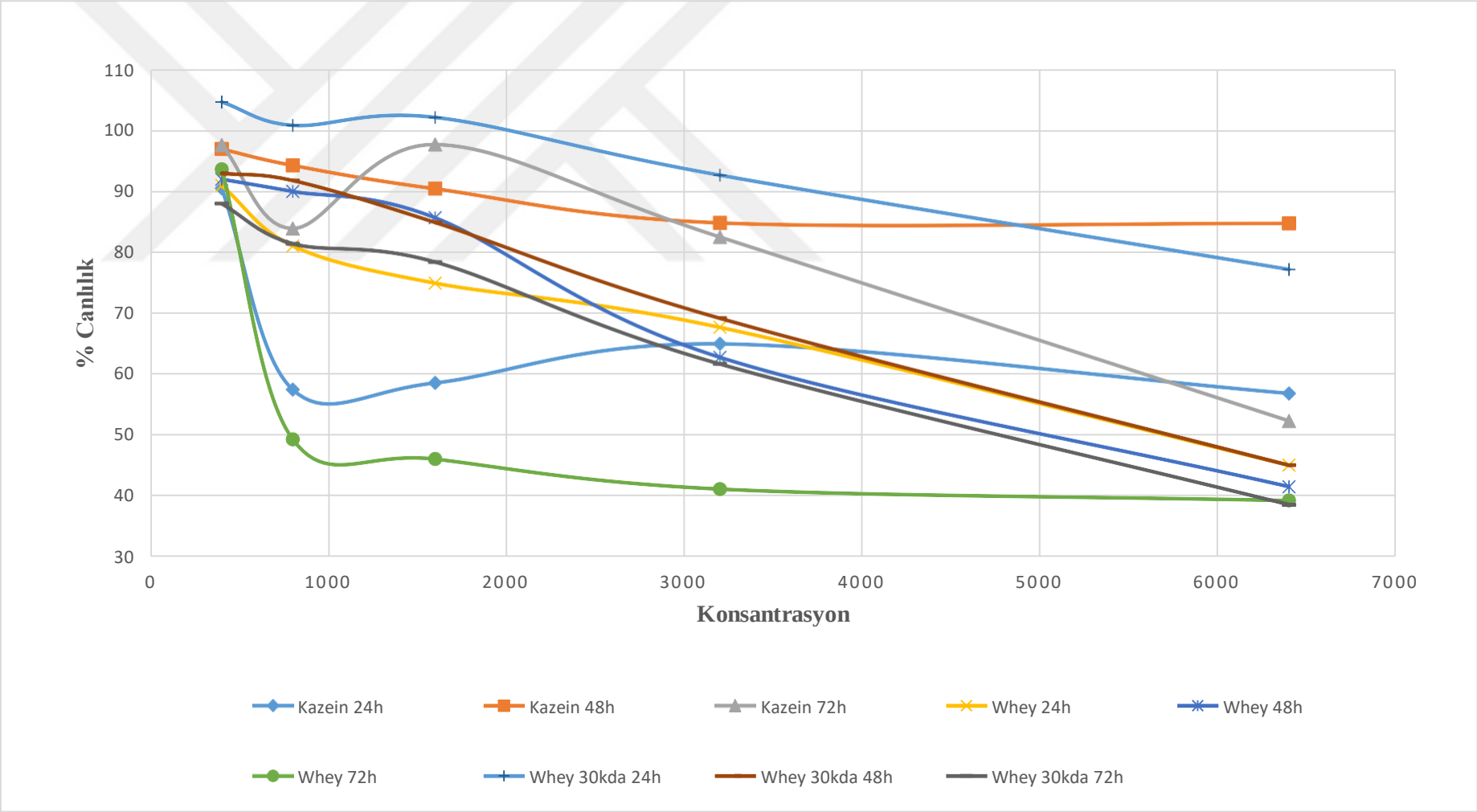


Şekil 6. İnek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları

MCF-7 kanser hücre hattında inek kazein proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 8.082 µg/ml, R^2= 0,229*;* 48 saatte bulunan IC50 değeri 12.516 µg/ml, R^2 = 0,746; 72 saatte bulunan IC50 değeri 7.151 µg/ml, R^2= 0,838 olarak belirlendi.

MCF-7 kanser hücre hattında inek whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 12.606 µg/ml, R^2= 0,974; inek whey 30kda 48 saatte bulunan IC50 değeri 5.753 µg/ml, R^2 = 0,996; inek whey 30kda 72 saatte bulunan IC50 değeri 4.907 µg/ml, R^2= 0,991 belirlendi.

MCF-7 kanser hücre hattında inek whey 24 saatte IC50 değeri 5.605 µg/ml, R^2 = 0,968; 48 saatte bulunan IC50 değeri 5.257 µg/ml, R^2 = 0,976; inek whey 72 saatte bulunan IC50 değeri 3.144 µg/ml, R^2= 0,373 olarak belirlendi (Şekil 7).

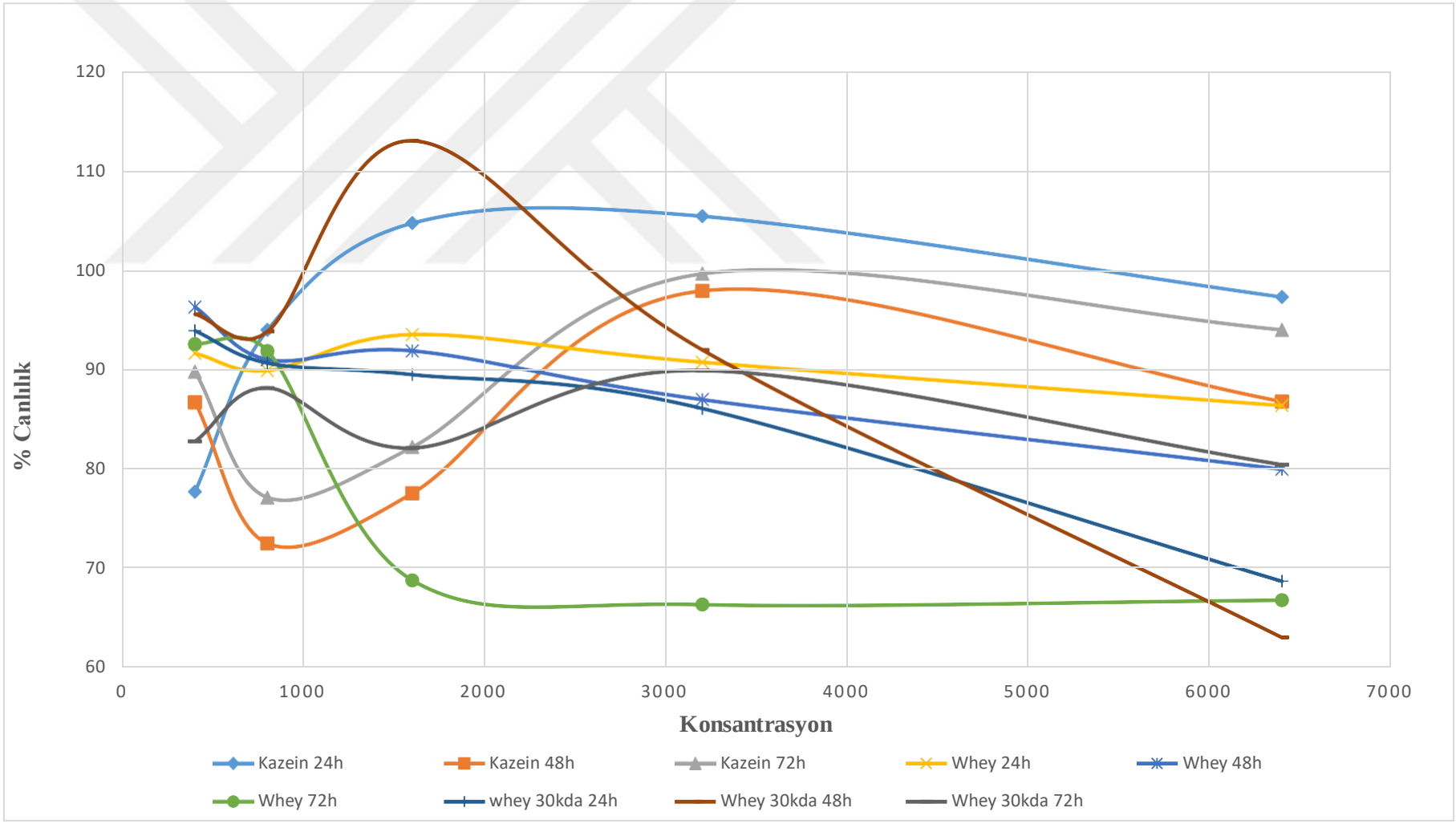


Şekil 7. İnek kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları

A549 kanser hücre hattında keçi kazein proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 29.060 µg/ml, R^2= 0,984*;* keçi kazein 48 saatte bulunan IC50 değeri 17.728 µg/ml, R^2 = 0,784; keçi kazein 72 saatte bulunan IC50 değeri 15.103 µg/ml, R^2= 0,734 olarak belirlendi.

A549 kanser hücre hattında keçi whey proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 53.241 µg/ml, R^2= 0,604*;* 48 saatte bulunan IC50 değeri 18.889 µg/ml, R^2 = 0,934; 72 saatte bulunan IC50 değeri 9.152 µg/ml, R^2= 0,537 belirlendi.

A549 kanser hücre hattında keçi whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 11.437 µg/ml, R^2= 0,960*;* keçi whey 30kda 48 saatte bulunan IC50 değeri 9.406 µg/ml, R^2 = 0,658 olarak belirlendi (Şekil 8).

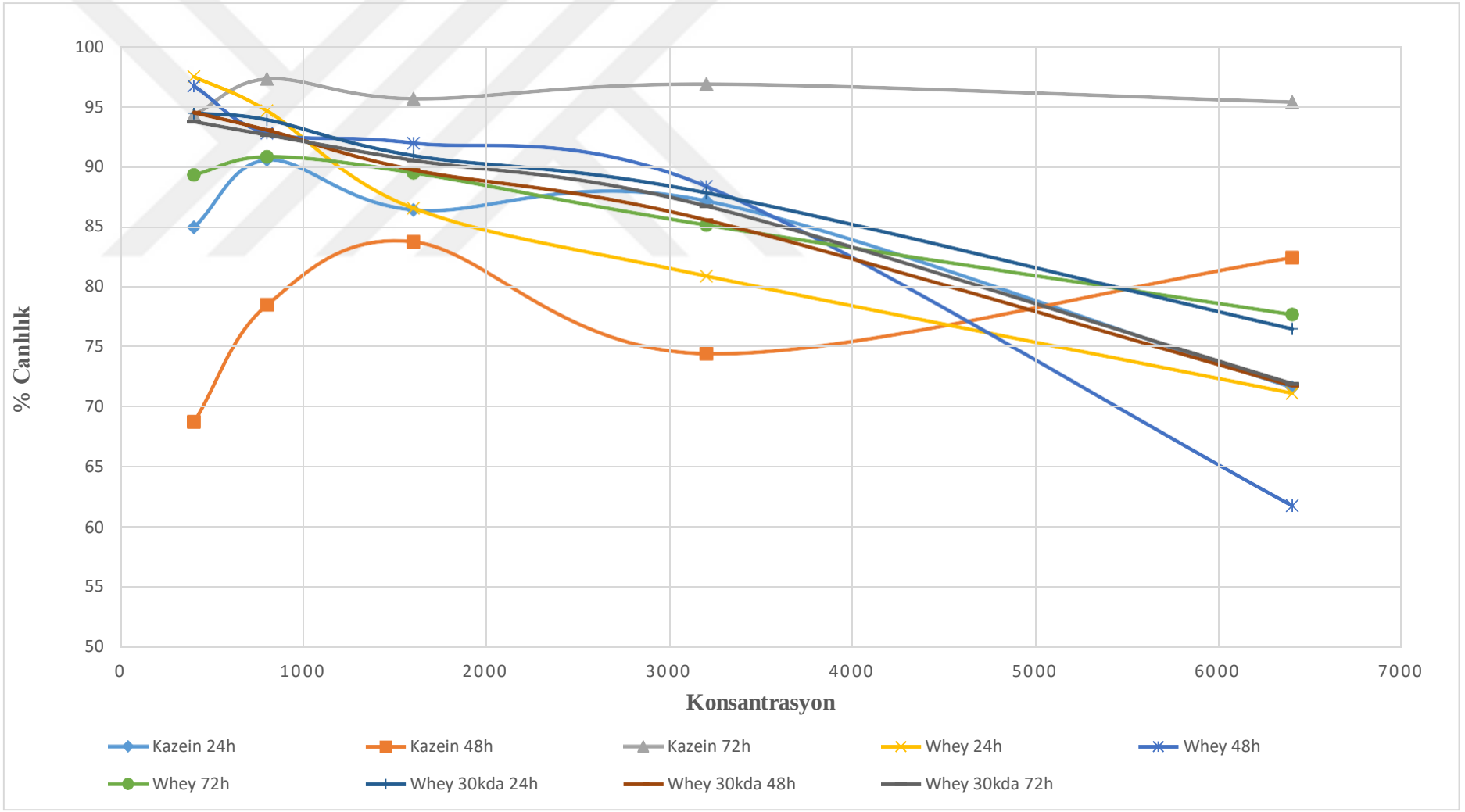


Şekil 8. Keçi kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları

MCF-7 kanser hücre hattında keçi kazein proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 15.604 µg/ml, R^2= 0,743; 48 saatte bulunan IC50 değeri 20.577 µg/ml, R^2 = 0,421; 72 saatte bulunan IC50 değeri 38.308 µg/ml, R^2= 0,331 belirlendi.

MCF-7 kanser hücre hattında keçi whey proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 11.115 µg/ml, R^2= 0,940; keçi whey 48 saatte bulunan IC50 değeri 9.112 µg/ml, R^2 = 0,931; keçi whey 72 saatte bulunan IC50 değeri 7.536 µg/ml, R^2= 0,892 belirlendi.

MCF-7 kanser hücre hattında keçi whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 36.937 µg/ml, R^2= 0,264; 48 saatte bulunan IC50 değeri 9.094 µg/ml, R^2 = 0,916; 72 saatte bulunan IC50 değeri 8.418 µg/ml, R^2= 0,834 belirlendi (Şekil 9).

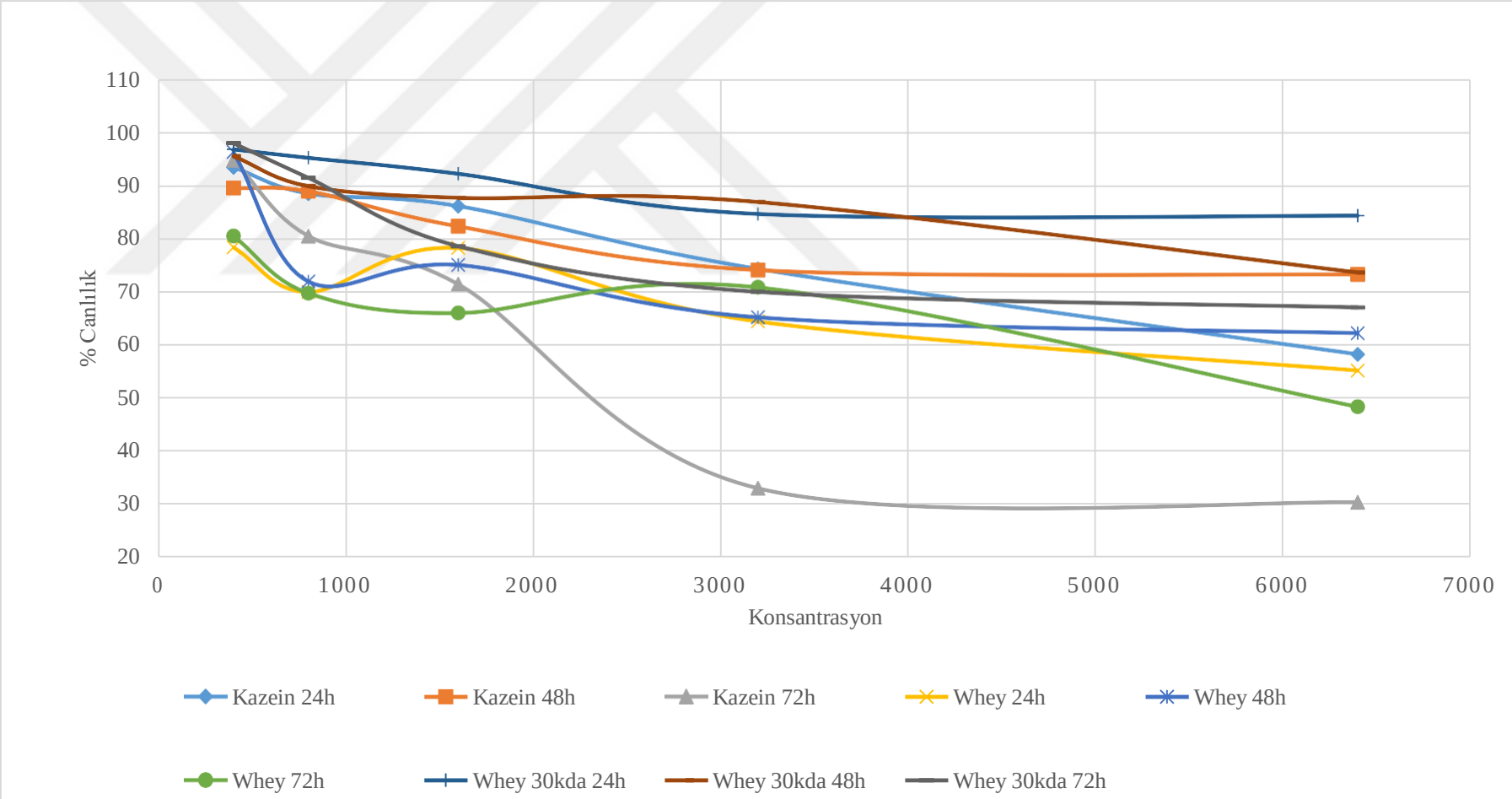


Şekil 9. Keçi kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları

A549 kanser hücre hattında koyun kazein proteinin 24 saatte IC50 değeri 7.647 µg/ml, R^2= 0,99*;* 48 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 13.805 µg/ml, R^2= 0,788*;* 72 saatte bulunan IC50 değeri 3.612 µg/ml, R^2 = 0,799 olarak belirlendi.

A549 kanser hücre hattında koyun whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 21.881 µg/ml, R^2= 0,795*;* 48 saatte bulunan IC50 değeri 13.938 µg/ml, R^2 =0,925; 72 saatte bulunan IC50 değeri 8.917 µg/ml, R^2 = 0,750 olarak belirlendi.

A549 kanser hücre hattında koyun whey proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 7.850 µg/ml, R^2= 0,818*;* 48 saatte bulunan IC50 değeri 8.538 ug/ml, R^2 = 0,542; 72 saatte bulunan IC50 değeri 6.447 µg/ml, R^2= 0,792 belirlendi (Şekil 10).

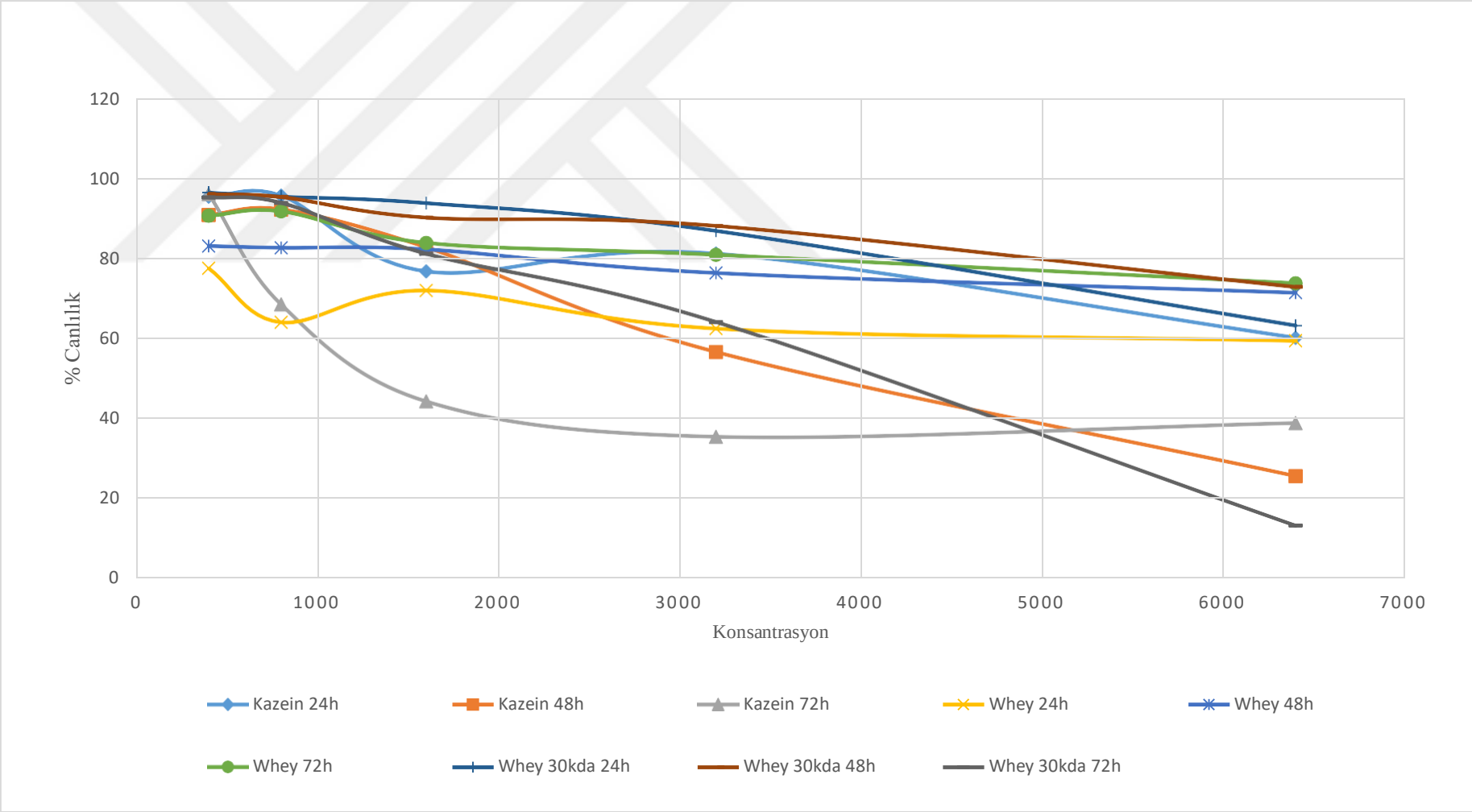


Şekil 10. Koyun kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin A549 hücrelerinde MTT sonuçları

MCF-7 kanser hücre hattında koyun kazein proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 8.167 µg/ml, R^2= 0,844; 48 saatte bulunan IC50 değeri 4.175 µg/ml, R^2 = 0,984; 72 saatte bulunan IC50 değeri 3.383 µg/ml, R^2= 0,497 belirlendi.

MCF-7 kanser hücre hattında koyun whey 30kda proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 9.132 µg/ml, R^2= 0,963; 48 saatte bulunan IC50 değeri 12.639 µg/ml, R^2 = 0,973; 72 saatte bulunan IC50 değeri 3.907 µg/ml, R^2= 0,992 belirlendi.

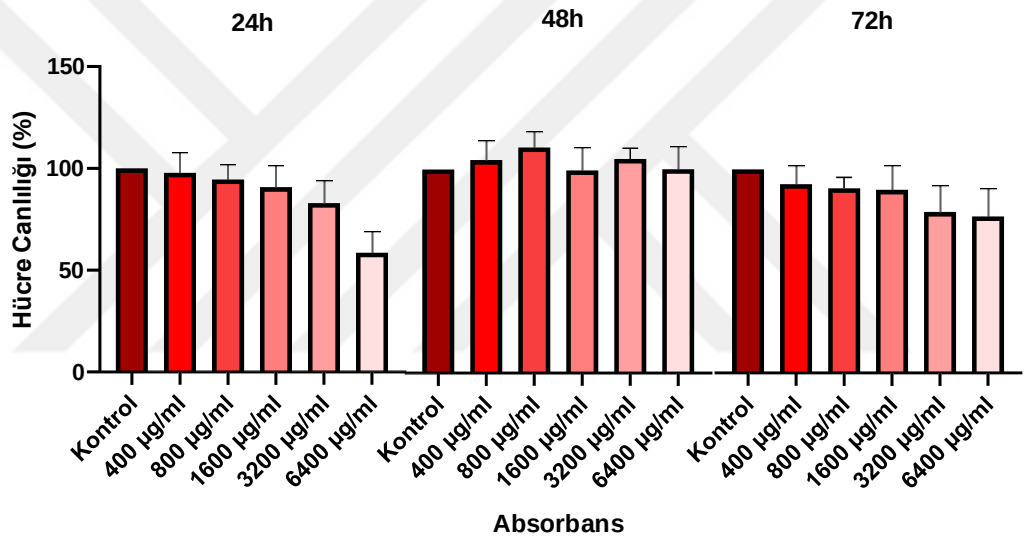
MCF-7 kanser hücre hattında koyun whey proteinin 24 saat çalışmada bulunan IC50 değeri 9.924 µg/ml, R^2= 0,556; 48 saatte bulunan IC50 değeri 15.611 µg/ml, R^2 = 0,965; 72 saatte bulunan IC50 değeri 14.299 µg/ml, R^2= 0,917 belirlendi (Şekil 11).



Şekil 11. Koyun kazein, whey ve whey 30kda uygulanan proteinlerin MCF-7 hücrelerinde MTT sonuçları

5.2.1. Eşek kazein A549 hücre canlılık oranı

Eşek kazein proteinin A549 hücre hattında hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 97,75; 800 µg/ml'de % 94,61; 1600 µg/ml' de % 90,83; 3200 µg/ml'de % 82,96; 6400 µg/ml'de % 58,54 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 111,29; 800 µg/ml'de % 117,49; 1600 µg/ml' de % 104,56; 3200 µg/ml'de % 120,21; 6400 µg/ml'de % 113,54 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 92,77; 800 µg/ml'de % 90,83; 1600 µg/ml' de % 90,09; 3200 µg/ml'de % 79,18; 6400 µg/ml'de % 76,92 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 12).

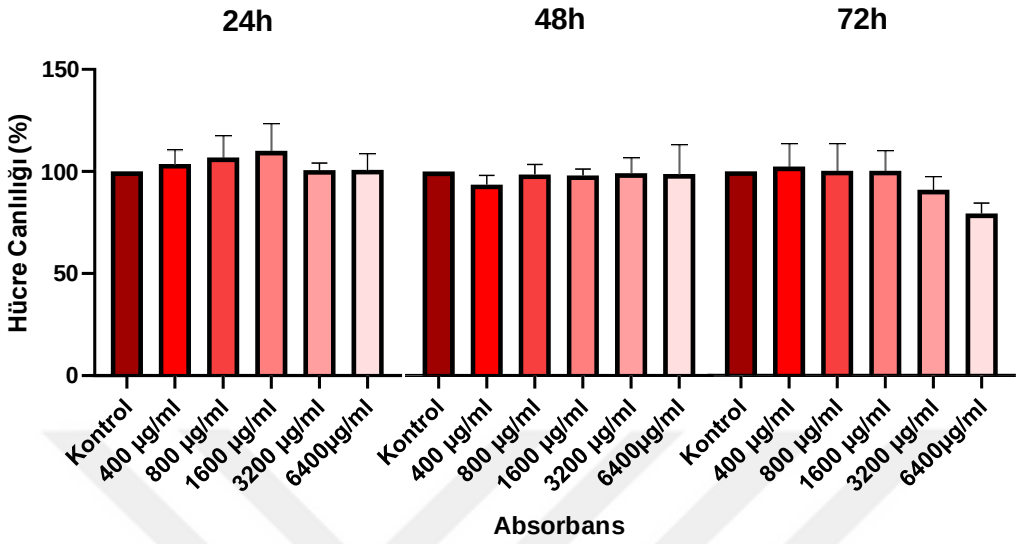


Şekil 12. Eşek kazeinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.2. Eşek kazein MCF-7 hücre canlılık oranı

Eşek kazein proteinin MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 103,69; 800 µg/ml'de % 106,92; 1600 µg/ml' de % 110,16; 3200 µg/ml'de % 100,66; 6400 µg/ml'de % 100,79 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 93,61; 800 µg/ml'de % 98,53; 1600 µg/ml' de % 98; 3200 µg/ml'de % 99,18; 6400 µg/ml'de % 98,77 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 102.40; 800 µg/ml'de % 100,31; 1600 µg/ml' de % 100,33; 3200 µg/ml'de % 91,03; 6400 µg/ml'de % 79,47 canlılık yüzdeleri

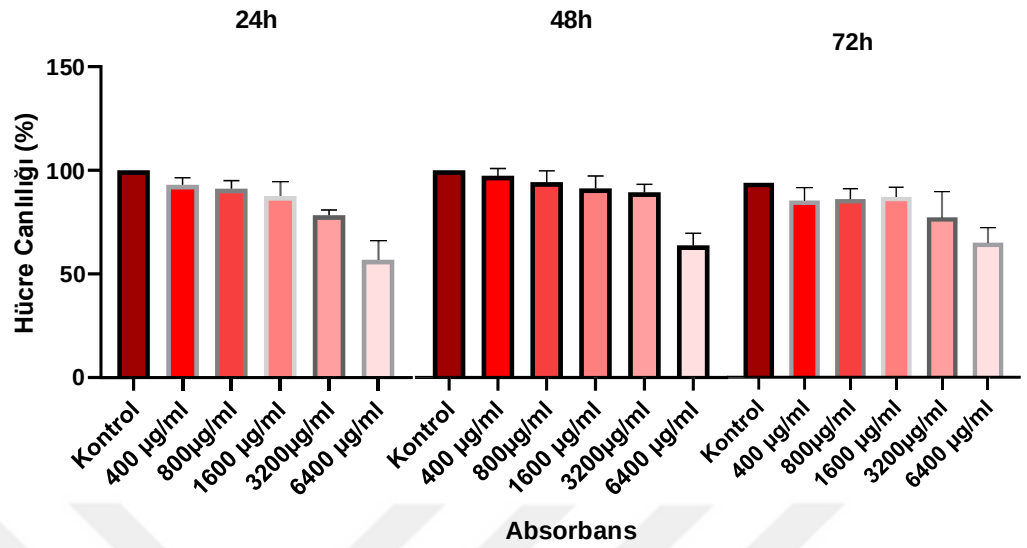
bulundu (Şekil 13).



Şekil 13. Eşek kazeinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.3. Eşek whey A549 hücre canlılık oranı

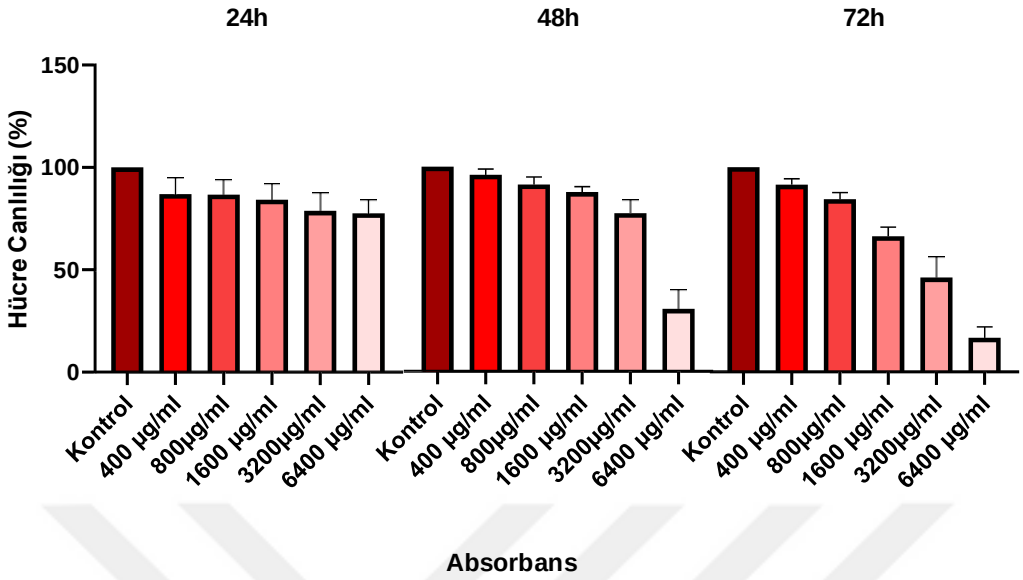
Eşek whey proteinin A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 93,07; 800 µg/ml'de % 91,19; 1600 µg/ml' de % 87,66; 3200 µg/ml'de % 78,47; 6400 µg/ml'de % 56,98 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 97,45; 800 µg/ml'de % 94,27; 1600 µg/ml' de % 91,35; 3200 µg/ml'de % 89,18; 6400 µg/ml'de % 63,75 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 90,91; 800 µg/ml'de % 91,63; 1600 µg/ml' de % 92,79; 3200 µg/ml'de % 82,33; 6400 µg/ml'de % 69,29 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 14).



Şekil 14. Eşek whey proteinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.4. Eşek whey MCF-7 hücre canlılık oranı

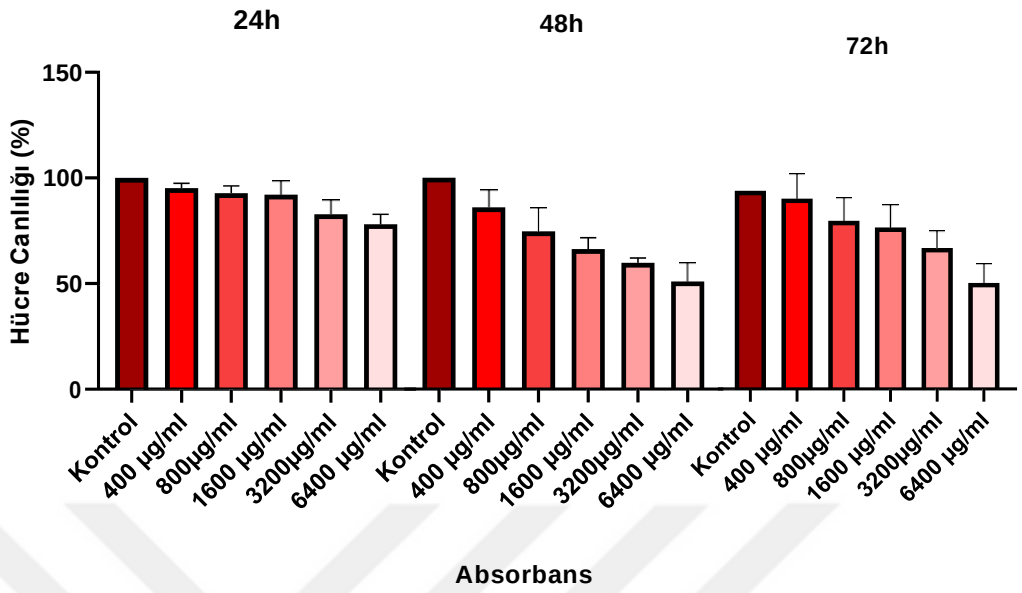
Eşek whey proteinin MCF-7 tümör hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 86,88; 800 µg/ml'de % 86,65; 1600 µg/ml' de % 84,17; 3200 µg/ml'de % 78,81; 6400 µg/ml'de % 77,59 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 96,04; 800 µg/ml'de % 91,33; 1600 µg/ml' de % 87,66; 3200 µg/ml'de % 77,28; 6400 µg/ml'de % 30,57 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 91,52; 800 µg/ml'de % 84,46; 1600 µg/ml' de % 66,27; 3200 µg/ml'de % 46,14; 6400 µg/ml'de % 16,64 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 15).



Şekil 15. Eşek whey proteinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.5. Eşek whey 30kda A549 hücre canlılık oranı

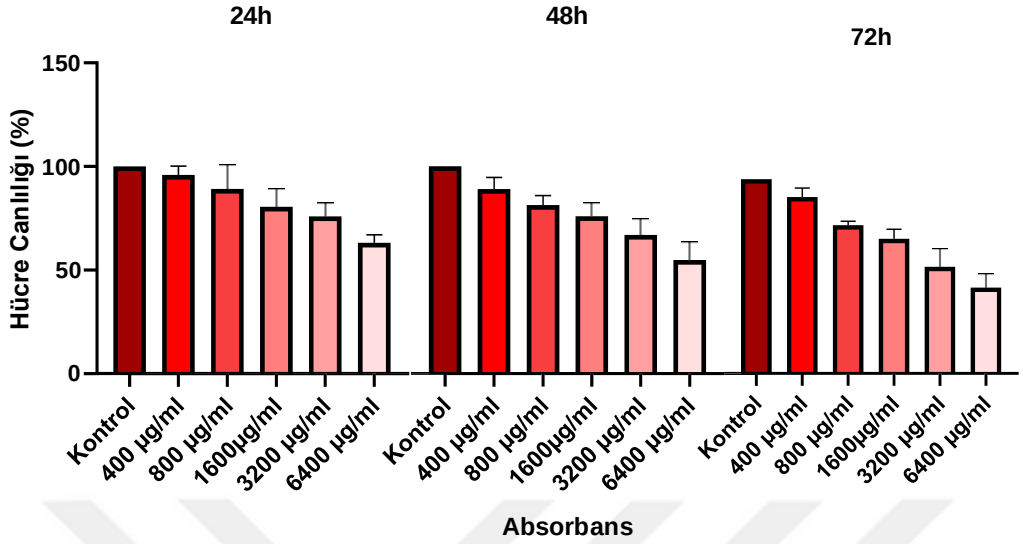
Eşek whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 95,21; 800 µg/ml'de % 92,78; 1600 µg/ml' de % 92,06; 3200 µg/ml'de % 82,86; 6400 µg/ml'de % 78 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 86,10; 800 µg/ml'de % 74,74; 1600 µg/ml' de % 66,34; 3200 µg/ml'de % 59,86; 6400 µg/ml'de % 50,94 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 96,01; 800 µg/ml'de % 84,90; 1600 µg/ml' de % 81,53; 3200 µg/ml'de % 71,22; 6400 µg/ml'de % 53,53 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 16).



Şekil 16. Eşek whey 30kda proteinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.6. Eşek whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı

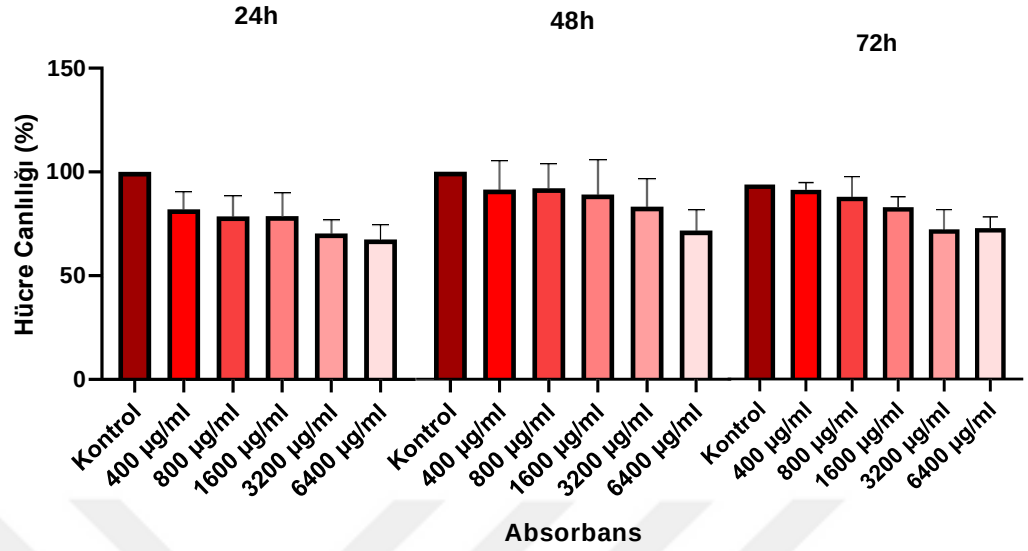
Eşek whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 95,97; 800 µg/ml'de % 89,16; 1600 µg/ml' de % 80,51; 3200 µg/ml'de % 75,95; 6400 µg/ml'de % 63,18 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 89,12; 800 µg/ml'de % 81,32; 1600 µg/ml' de % 75,87; 3200 µg/ml'de % 66,93; 6400 µg/ml'de % 54,80 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 90,80; 800 µg/ml'de % 76,29; 1600 µg/ml' de % 69,33; 3200 µg/ml'de % 54,89; 6400 µg/ml'de % 44,22 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 17).



Şekil 17. Eşek whey 30kda proteinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.7. İnek kazein A549 hücre canlılık oranı

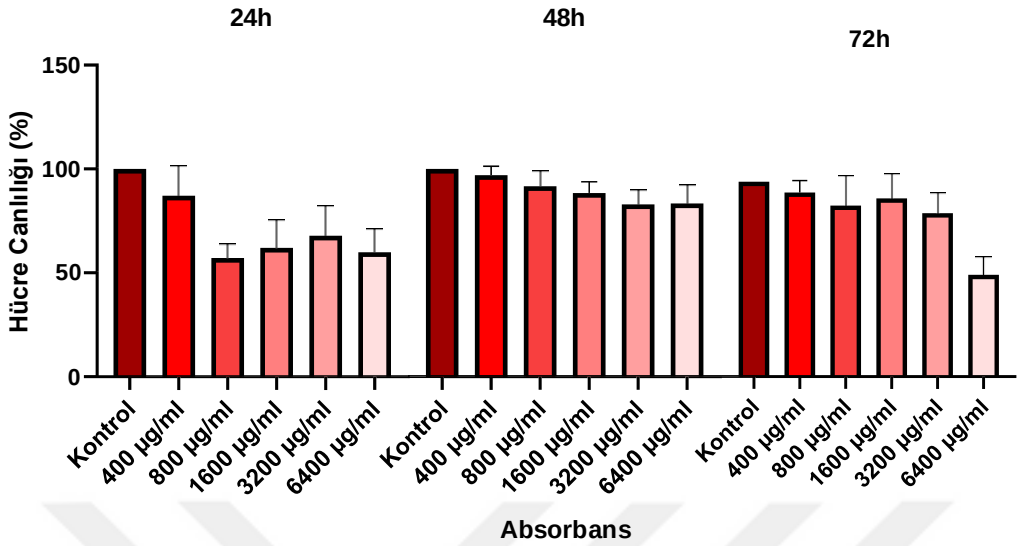
İnek kazein proteinin A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 81,98; 800 µg/ml'de % 78,56; 1600 µg/ml' de % 78,69; 3200 µg/ml'de % 70,26; 6400 µg/ml'de % 67,45 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 91,37; 800 µg/ml'de % 92,11; 1600 µg/ml' de % 89,12; 3200 µg/ml'de % 83,15; 6400 µg/ml'de % 71,67 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 97,33; 800 µg/ml'de % 93,77; 1600 µg/ml' de % 88,41; 3200 µg/ml'de % 77,03; 6400 µg/ml'de % 77,67 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 18).



Şekil 18. İnek kazeinin A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.8. İnek kazein MCF-7 hücre canlılık oranı

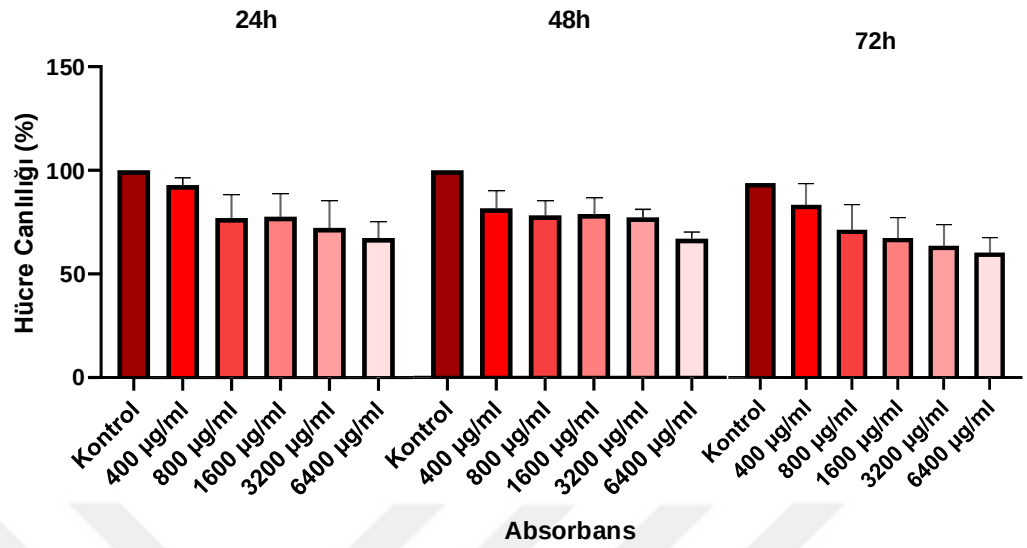
İnek kazein proteinin MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 87,19; 800 µg/ml'de % 57,18; 1600 µg/ml' de % 62,03; 3200 µg/ml'de % 67,97; 6400 µg/ml'de % 59,97 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 97,06; 800 µg/ml'de % 91,62; 1600 µg/ml' de % 88,41; 3200 µg/ml'de % 82,9; 6400 µg/ml'de % 83,4 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 94,57; 800 µg/ml'de % 87,81; 1600 µg/ml' de % 91,53; 3200 µg/ml'de % 83,93; 6400 µg/ml'de % 52,34 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 19).



Şekil 19. İnek kazeinin MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.9. İnek whey A549 hücre canlılık oranı

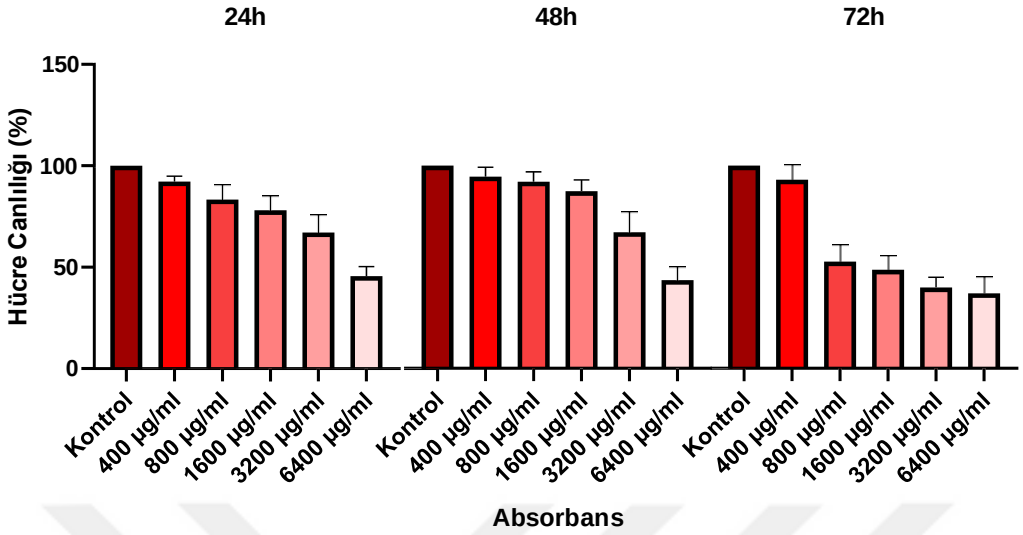
İnek whey proteinin A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 92,89; 800 µg/ml'de % 77,11; 1600 µg/ml' de % 77,63; 3200 µg/ml'de % 72,36; 6400 µg/ml'de % 67,43 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 81,69; 800 µg/ml'de % 78,36; 1600 µg/ml' de % 78,93; 3200 µg/ml'de % 77,27; 6400 µg/ml'de % 67,07 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 88,9; 800 µg/ml'de % 76,12; 1600 µg/ml' de % 71,75; 3200 µg/ml'de % 67,79; 6400 µg/ml'de % 64,32 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 20).



Şekil 20. İnek whey A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.10. İnek whey MCF-7 hücre canlılık oranı

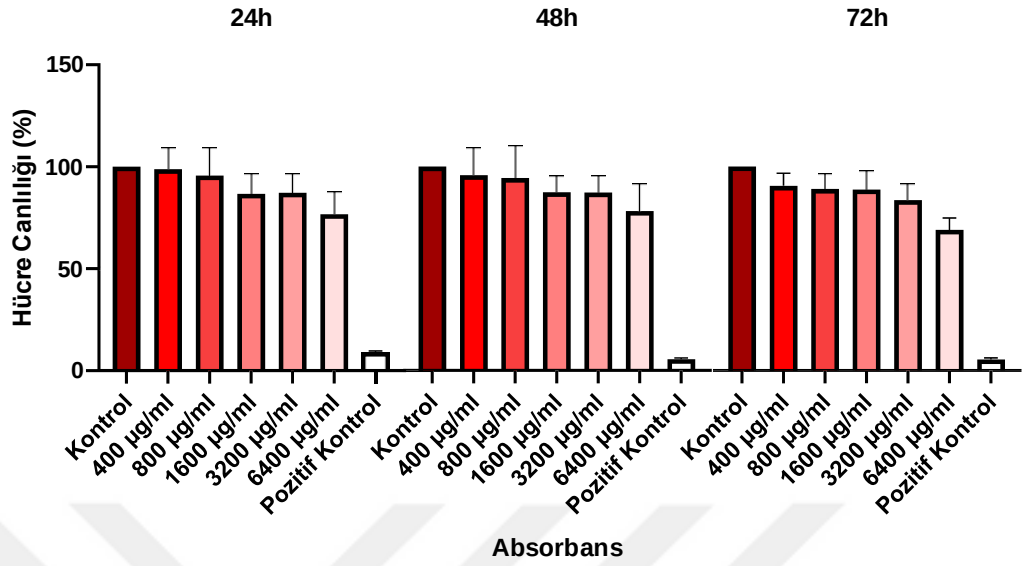
İnek whey proteinin MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 92,15; 800 µg/ml'de % 83,36; 1600 µg/ml' de % 78,11; 3200 µg/ml'de % 67,02; 6400 µg/ml'de % 45,57 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 94,55; 800 µg/ml'de % 92,09; 1600 µg/ml' de % 87,38; 3200 µg/ml'de % 67,23; 6400 µg/ml'de % 43,52 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 93,05; 800 µg/ml'de % 52,73; 1600 µg/ml' de % 48,69; 3200 µg/ml'de % 39,93; 6400 µg/ml'de % 37,06 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 21).



Şekil 21. İnek whey MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.11. İnek whey 30kda A549 hücre canlılık oranı

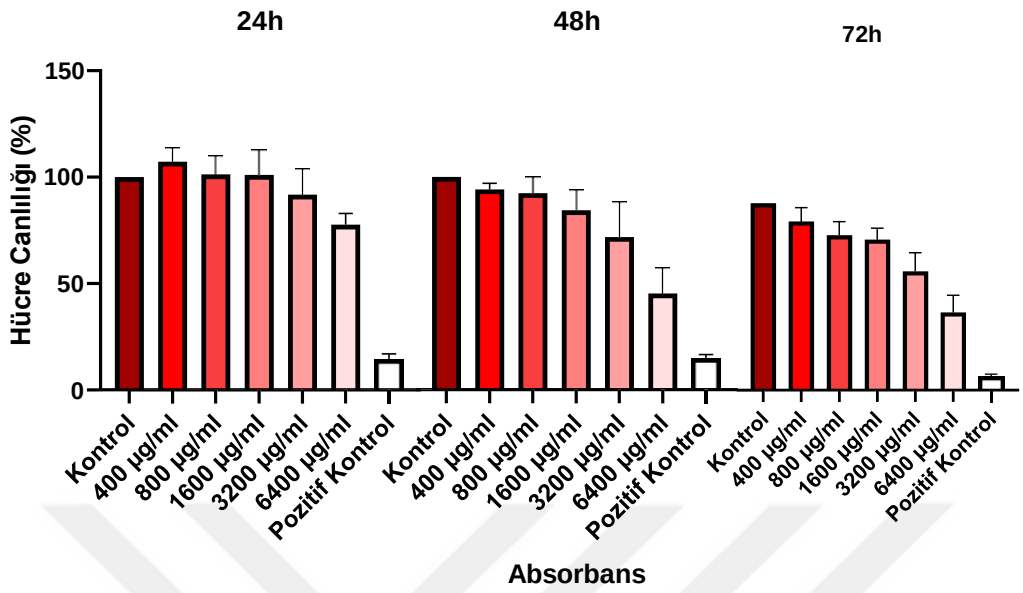
İnek whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 98,83; 800 µg/ml'de % 95,73; 1600 µg/ml' de % 86,62; 3200 µg/ml'de %87,19; 6400 µg/ml'de % 76 ve pozitif kontrol % 9,09 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 95,86; 800 µg/ml'de % 94,47; 1600 µg/ml' de %87,45; 3200 µg/ml'de %87,25; 6400 µg/ml'de % 78,21 ve pozitif kontrol % 5,53 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 90,52; 800 µg/ml'de % 89,09; 1600 µg/ml' de % 88,72; 3200 µg/ml'de % 83,57; 6400 µg/ml'de % 68,96 ve pozitif kontrol % 5,49 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 22).



Şekil 22. İnek whey 30kda A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.12. İnek whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı

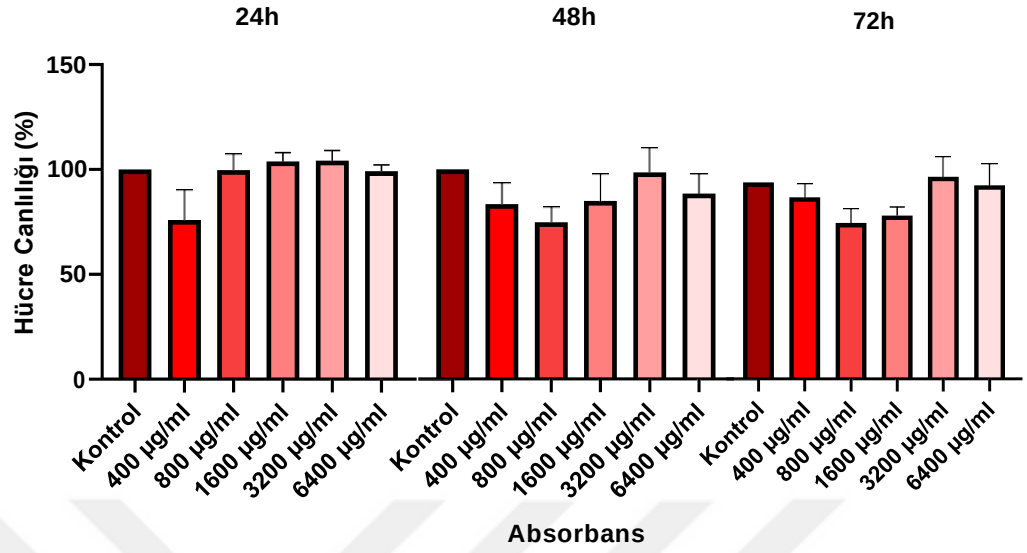
İnek whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 107,32; 800 µg/ml'de % 101,26; 1600 µg/ml' de % 101,11; 3200 µg/ml'de %91,83; 6400 µg/ml'de % 77,7 ve pozitif kontrol % 14,53 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 94,18; 800 µg/ml'de % 92,43; 1600 µg/ml' de %84,41; 3200 µg/ml'de %71,84; 6400 µg/ml'de % 45,37 ve pozitif kontrol % 14,33 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 90,34; 800 µg/ml'de % 82,91; 1600 µg/ml' de % 80,59; 3200 µg/ml'de % 63,52; 6400 µg/ml'de % 41,56 ve pozitif kontrol % 7,37 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 23).



Şekil 23. İnek whey 30kda MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.13. Keçi kazein A549 hücre canlılık oranı

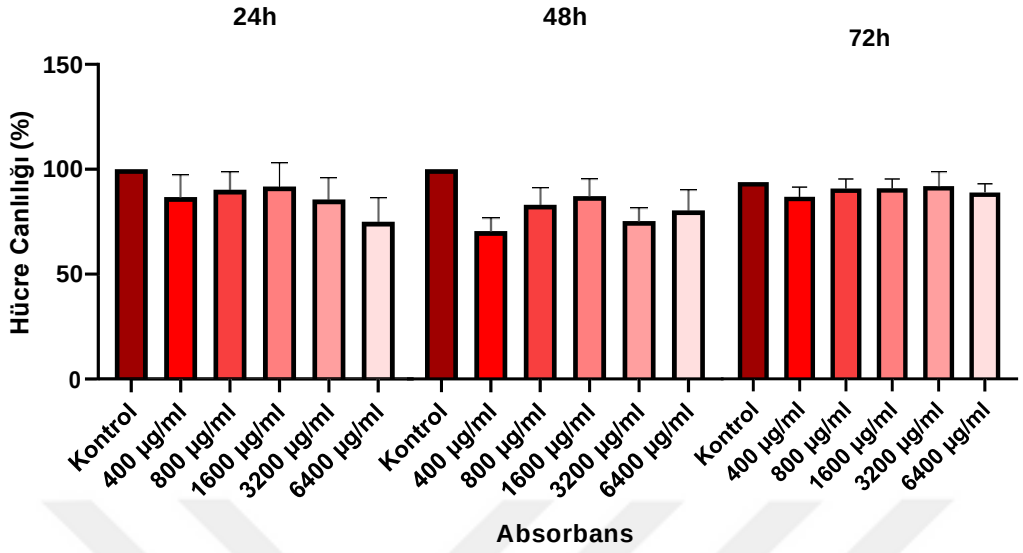
Keçi kazein proteinin A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 75,95; 800 µg/ml'de % 99,67; 1600 µg/ml' de % 103,87; 3200 µg/ml'de % 104,15; 6400 µg/ml'de % 99,16 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 83,48; 800 µg/ml'de % 74,75; 1600 µg/ml' de % 84,96; 3200 µg/ml'de % 98,62; 6400 µg/ml'de % 88,44 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 92,38; 800 µg/ml'de % 79,48; 1600 µg/ml' de % 83,18; 3200 µg/ml'de % 102,93; 6400 µg/ml'de % 98,57 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 24).



Şekil 24. Keçi kazein A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.14. Keçi kazein MCF-7 hücre canlılık oranı

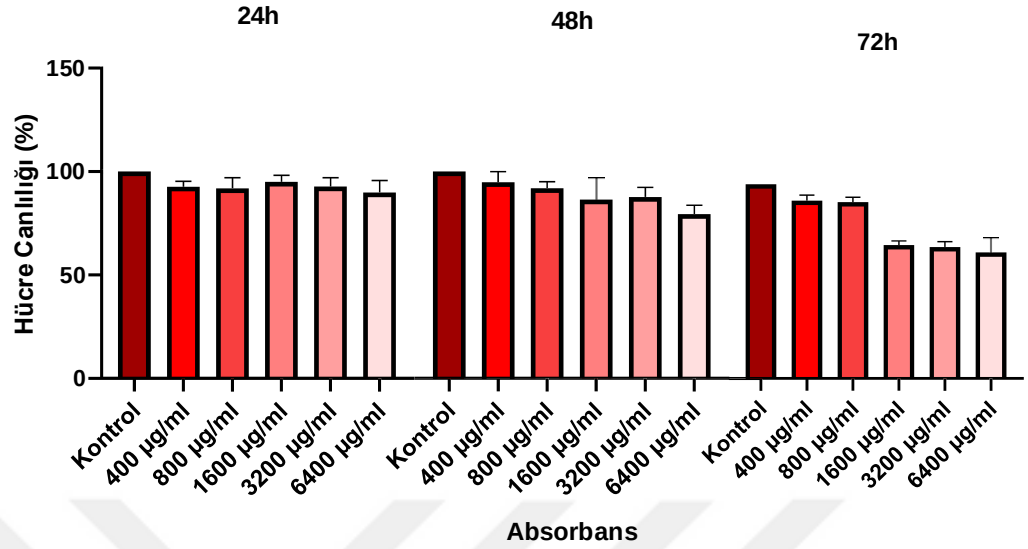
Keçi kazein proteinin MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 86,84; 800 µg/ml'de % 90,27; 1600 µg/ml' de % 91,76; 3200 µg/ml'de % 85,67; 6400 µg/ml'de % 75,07 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 70,59; 800 µg/ml'de % 83,08; 1600 µg/ml' de % 87,14; 3200 µg/ml'de % 75,34; 6400 µg/ml'de % 80,37 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 92,61; 800 µg/ml'de % 96,75; 1600 µg/ml' de % 96,98; 3200 µg/ml'de % 98,84; 6400 µg/ml'de % 98,09 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 25).



Şekil 25. Keçi kazein MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.15. Keçi whey A549 hücre canlılık oranı

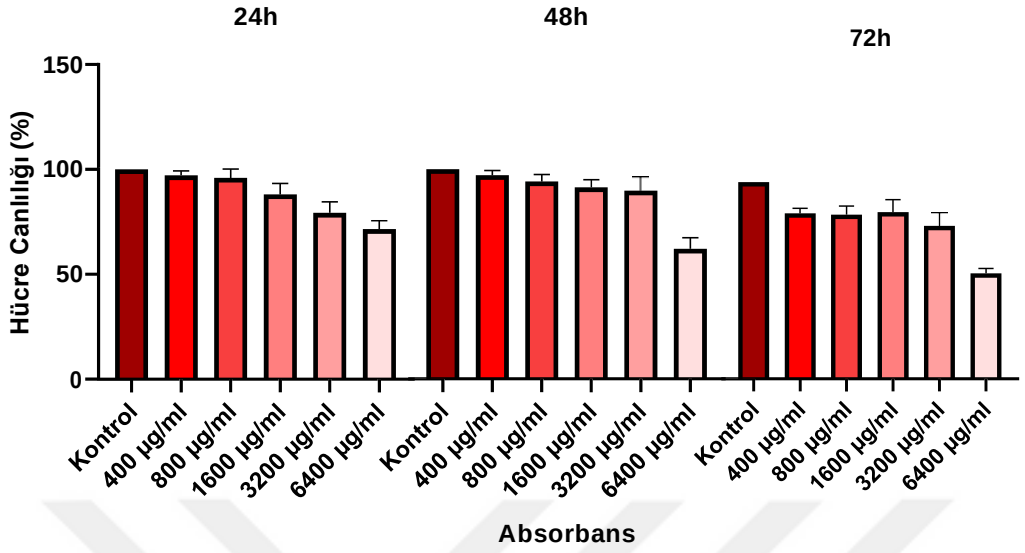
Keçi whey proteinin A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 92,68; 800 µg/ml'de % 91,96; 1600 µg/ml' de % 95,03; 3200 µg/ml'de % 92,78; 6400 µg/ml'de % 89,93 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 94,86; 800 µg/ml'de %91,97; 1600 µg/ml' de % 86,38; 3200 µg/ml'de % 87,66; 6400 µg/ml'de % 79,04 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 91,52; 800 µg/ml'de % 90,84; 1600 µg/ml' de % 68,71; 3200 µg/ml'de % 67,66; 6400 µg/ml'de % 64,94 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 26).



Şekil 26. Keçi whey A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.16. Keçi whey MCF-7 hücre canlılık oranı

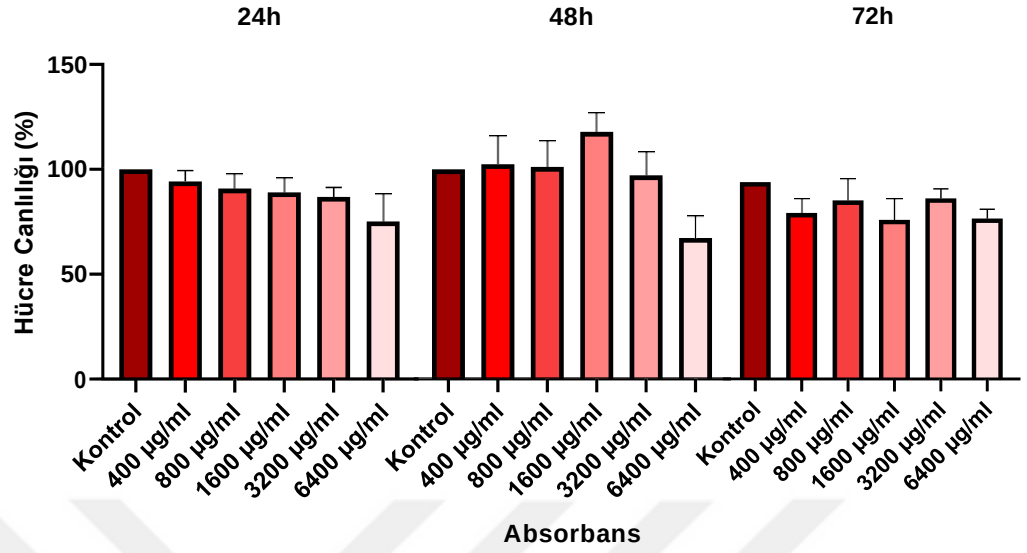
Keçi whey proteinin MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 97,19; 800 µg/ml'de % 95,99; 1600 µg/ml' de % 88,03; 3200 µg/ml'de % 79,37; 6400 µg/ml'de % 71,57 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 97,24; 800 µg/ml'de % 94,14; 1600 µg/ml' de % 91,46; 3200 µg/ml'de % 89,86; 6400 µg/ml'de % 62,09 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 82,12; 800 µg/ml'de % 83,62; 1600 µg/ml' de % 84,78; 3200 µg/ml'de % 77,76; 6400 µg/ml'de % 53,66 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 27).



Şekil 27. Keçi whey MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.17. Keçi whey 30kda A549 hücre canlılık oranı

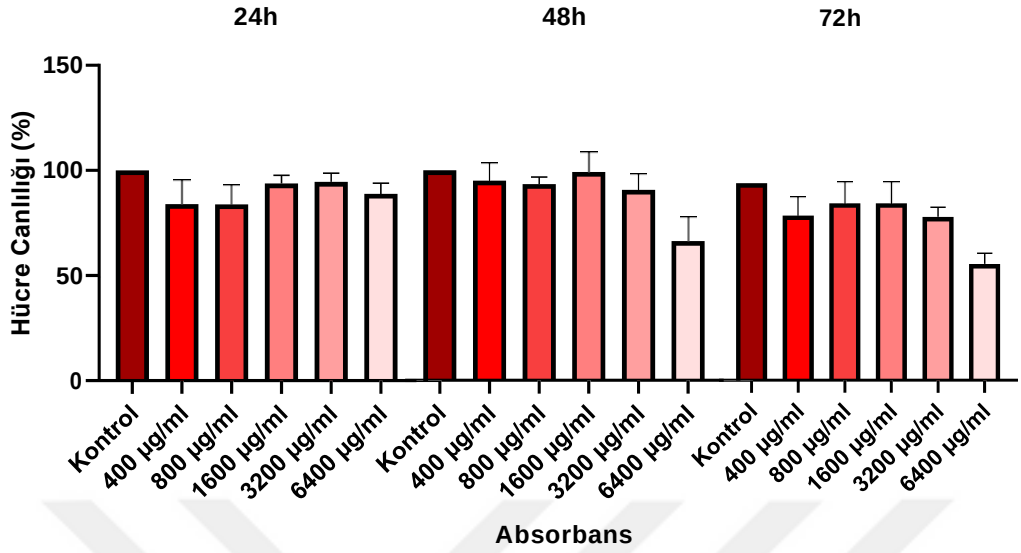
Keçi whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 94,26; 800 µg/ml'de % 90,92; 1600 µg/ml' de % 89,11; 3200 µg/ml'de % 86,94; 6400 µg/ml'de % 75,14 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 102,46; 800 µg/ml'de % 101,17; 1600 µg/ml' de % 117,89; 3200 µg/ml'de % 97,19; 6400 µg/ml'de % 67,28 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 84,37; 800 µg/ml'de % 90,77; 1600 µg/ml' de % 80,88; 3200 µg/ml'de % 91,85; 6400 µg/ml'de % 81,53 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 28).



Şekil 28. Keçi whey 30kda A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.18. Keçi whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı

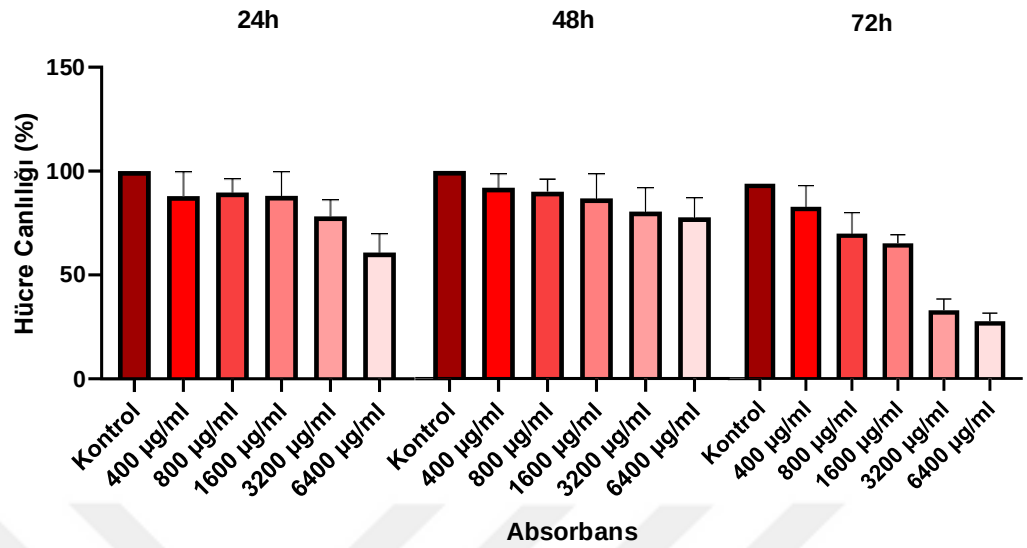
Keçi whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 83,89; 800 µg/ml'de % 83,84; 1600 µg/ml' de % 93,75; 3200 µg/ml'de % 94,5; 6400 µg/ml'de % 88,83 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 95; 800 µg/ml'de % 93,48; 1600 µg/ml' de % 99,21; 3200 µg/ml'de % 90,65; 6400 µg/ml'de % 66,3 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 83,53; 800 µg/ml'de % 89,79; 1600 µg/ml' de % 89,85; 3200 µg/ml'de % 82,92; 6400 µg/ml'de % 59,07 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 29).



Şekil 29. Keçi whey 30kda MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.19. Koyun kazein A549 hücre canlılık oranı

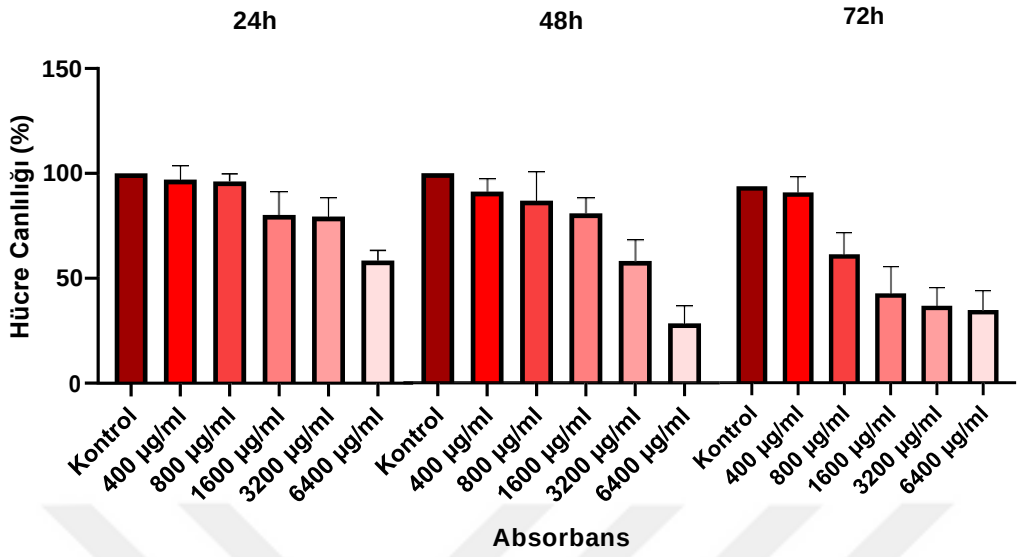
Koyun kazein proteinin A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 87,98; 800 µg/ml'de % 89,69; 1600 µg/ml' de % 88,04; 3200 µg/ml'de % 78,24; 6400 µg/ml'de % 60,79 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 91,92; 800 µg/ml'de %90,06; 1600 µg/ml' de % 86,76; 3200 µg/ml'de % 80,49; 6400 µg/ml'de % 77,7 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 88,2; 800 µg/ml'de % 74,47; 1600 µg/ml' de % 69,45; 3200 µg/ml'de % 35,01; 6400 µg/ml'de % 29,38 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 30).



Şekil 30. Koyun kazein A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.20. Koyun kazein MCF-7 hücre canlılık oranı

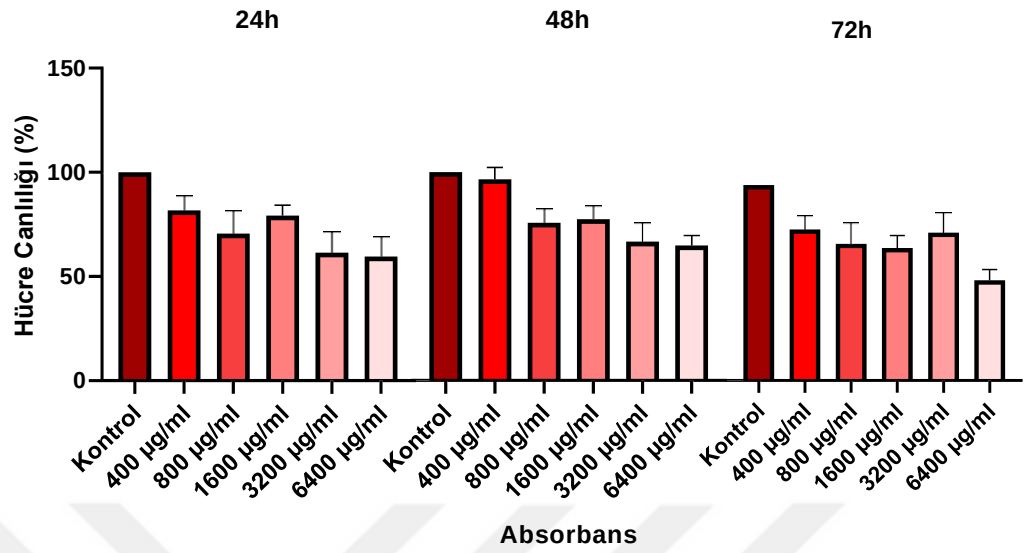
Koyun kazein proteinin MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 97,08; 800 µg/ml'de % 96,22; 1600 µg/ml' de % 80,2; 3200 µg/ml'de % 79,47; 6400 µg/ml'de % 58,45 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 91,37; 800 µg/ml'de %86,95; 1600 µg/ml' de % 80,95; 3200 µg/ml'de % 58,21; 6400 µg/ml'de % 28,48 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 96,99; 800 µg/ml'de % 65,37; 1600 µg/ml' de % 45,54; 3200 µg/ml'de % 39,23; 6400 µg/ml'de % 37 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 31).



Şekil 31. Koyun kazein MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.21. Koyun whey A549 hücre canlılık oranı

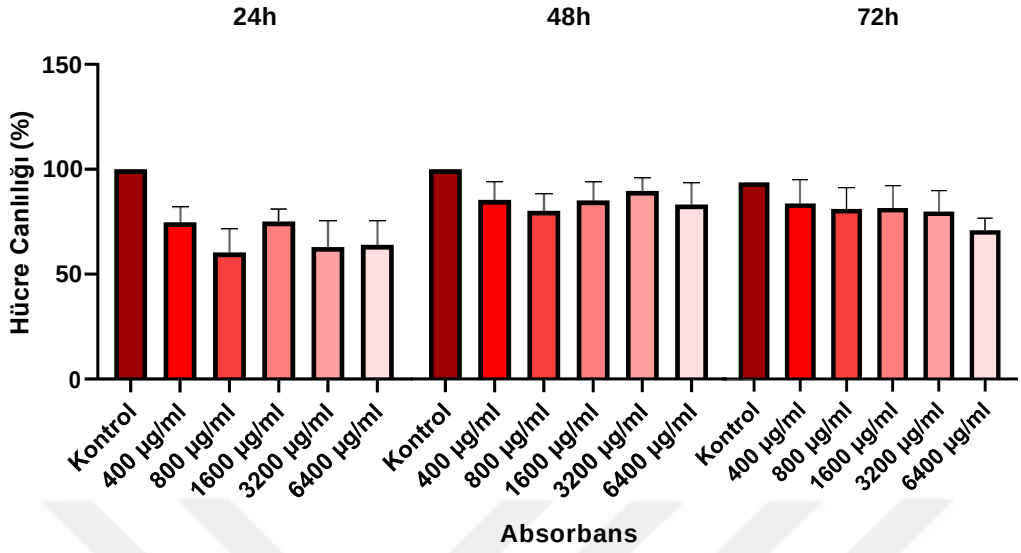
Koyun whey proteinin A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 81,62; 800 µg/ml'de % 70,61; 1600 µg/ml' de % 79,23; 3200 µg/ml'de % 61,38; 6400 µg/ml'de % 59,55 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 96,5; 800 µg/ml'de %75,74; 1600 µg/ml' de % 77,42; 3200 µg/ml'de % 66,72; 6400 µg/ml'de % 64,76 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 77,27; 800 µg/ml'de % 69,95; 1600 µg/ml' de % 67,86; 3200 µg/ml'de % 75,73; 6400 µg/ml'de % 51,28 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 32).



Şekil 32. Koyun whey A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.22. Koyun whey MCF-7 hücre canlılık oranı

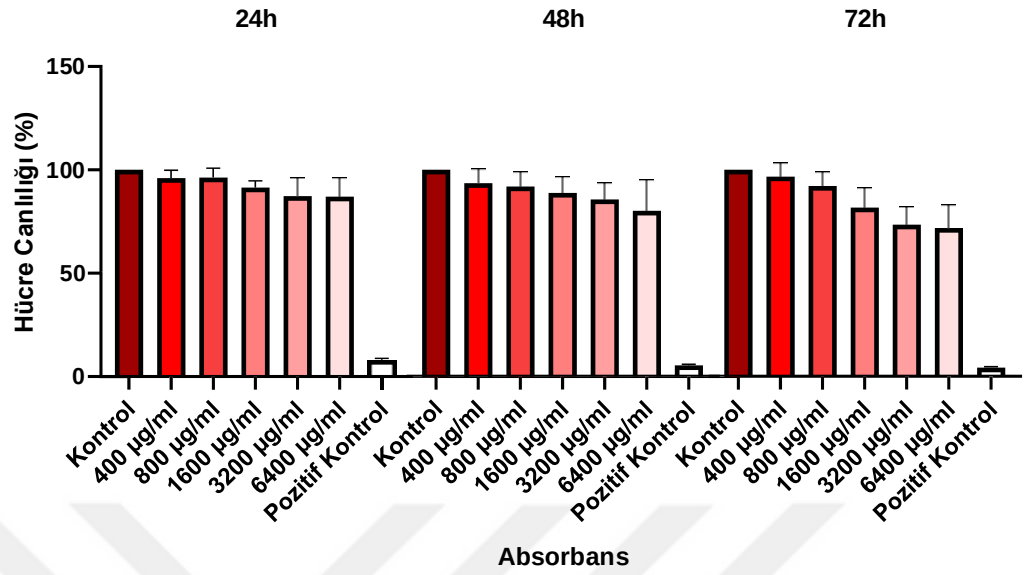
Koyun whey proteinin MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 74,85; 800 µg/ml'de % 60,41; 1600 µg/ml' de % 75,14; 3200 µg/ml'de % 62,93; 6400 µg/ml'de % 64,06 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 85,12; 800 µg/ml'de %80,17; 1600 µg/ml' de % 85,21; 3200 µg/ml'de % 89,71; 6400 µg/ml'de % 83,22 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 89,34; 800 µg/ml'de % 86,51; 1600 µg/ml' de % 87,04; 3200 µg/ml'de % 85,18; 6400 µg/ml'de % 75,19 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 33).



Şekil 33. Koyun whey MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.23. Koyun whey 30kda A549 hücre canlılık oranı

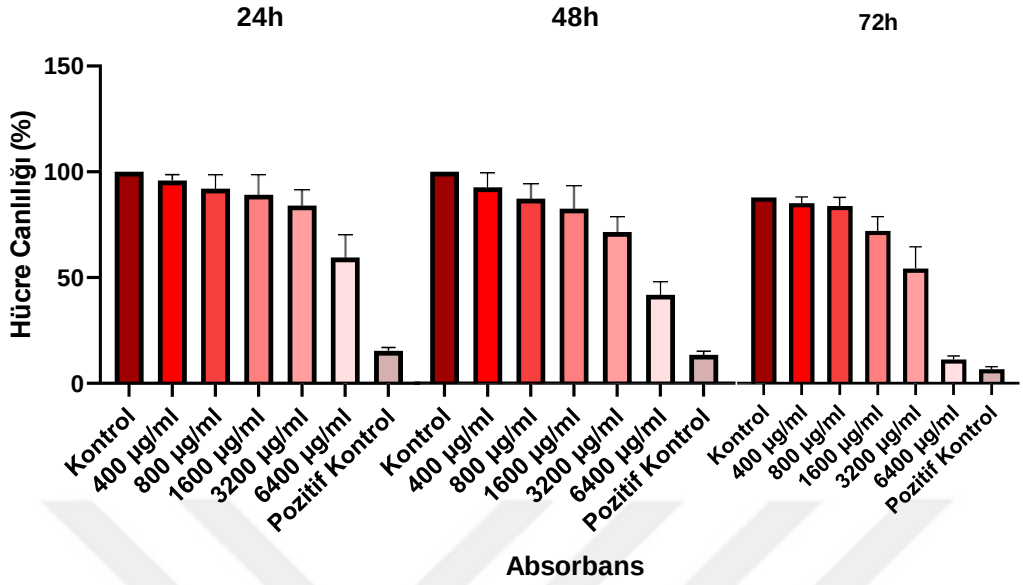
Koyun whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra A549 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 96,07; 800 µg/ml'de % 96,27; 1600 µg/ml' de % 91,45; 3200 µg/ml'de %87,27; 6400 µg/ml'de % 87,05 ve pozitif kontrol % 8,02 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 93,56; 800 µg/ml'de % 91,95; 1600 µg/ml' de %88,82; 3200 µg/ml'de %85,69; 6400 µg/ml'de % 80,17 ve pozitif kontrol % 5,39 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 96,71; 800 µg/ml'de % 92,19; 1600 µg/ml' de % 81,63; 3200 µg/ml'de % 73,46; 6400 µg/ml'de % 71,77 ve pozitif kontrol % 4,36 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 34).



Şekil 34. Koyun whey 30kda A549 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.2.24. Koyun whey 30kda MCF-7 hücre canlılık oranı

Koyun whey proteinin 30 kda ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra MCF-7 hücredeki hücre canlılık oranları (kontrol %100) doz ve zamana bağlı olarak sırasıyla 24h için: 400 µg/ml'de % 95,9; 800 µg/ml'de % 92,04; 1600 µg/ml' de % 89,14; 3200 µg/ml'de %84,08; 6400 µg/ml'de % 59,59 ve pozitif kontrol % 15,44 canlılık yüzdeleri bulundu. 48h için: 400 µg/ml'de % 92,71; 800 µg/ml'de % 87,26; 1600 µg/ml' de %82,57; 3200 µg/ml'de %71,51; 6400 µg/ml'de % 41,78 ve pozitif kontrol % 13,44 canlılık yüzdeleri bulundu. 72h için: 400 µg/ml'de % 96,87; 800 µg/ml'de % 95,43; 1600 µg/ml' de % 82,06; 3200 µg/ml'de % 61,83; 6400 µg/ml'de % 12,83 ve pozitif kontrol % 7,57 canlılık yüzdeleri bulundu (Şekil 35).



Şekil 35. Koyun whey 30kda MCF-7 hücrelerinde MTT ile belirlenen hücre canlılık oranları

5.3. A549 ve MCF-7 Kanserli Hücrelerin MTT Değerlerinin İstatistiksel Analizleri

Farklı hayvan türlerinin kolostrum numunelerinden elde edilen whey ve kazein proteinlerinin 6400µg/ml yüksek dozdan başlayarak azalan seri dilüsyonları ile 24,48 ve 72 saat inkübe edilen A549 ve MCF-7 hücre hatlarıyla üç tekrar yapılarak, antiproliferatif etkileri ve hücre canlılık değişimleri MTT yöntemiyle çalışıldı ve değerlerin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirildi.

5.3.1. Eşek kazein A549 istatistiksel analiz

Eşek kolostrum numunesinin fraksiyonlarına ayrılması sonrasında elde edilen kazein proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.05$). Konsantrasyonlar arasındaki istatististiki fark ise; 6400 µg/ml ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 48 saat için; kontrol grubu konsantrasyonlar arasında anlamlı fark belirlenmedi ($p>0.05$).

Konsantrasyonlar arasındaki yapılan karşılaştırmalarda 6400 µg/ml ile 1600 µg/ml ve 800 µg/ml konsantrasyonlar arasında fark istatistiki açıdan önemli bulundu ($p<0.05$). 72 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 6400 µg/ml'de ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$) (Tablo 6).

Konsantrasyonlar arasındaki yapılan karşılaştırmada; 6400 µg/ml ile 3200 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 6400 µg/ml ile 1600 µg/ml ve 800 µg/ml arasındaki istatistiki fark önemli bulundu ($p=0.001$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml ve kontrol grubu arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$) (Tablo 6).

Tablo 6. Eşek kazein A549 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00 ^{a,1}	100±0,00^{a}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	97,75±9,61 ^{be,2}	103,93±3,24^{b,1}	92,77±8,73^{b}
800 µg/ml	94,61±6,87 ^{ce,2}	102,76±5,97^{c,1}	90,83±5,34^{c,3}
1600 µg/ml	90,83±10,37 ^{de,2}	98,91±8,44^{d}	90,09±11,5^{d}
3200 µg/ml	82,96±10,42 ^{ae,1,3}	97,16±6,51^{e}	84,76±10,81^{ac,1}
6400 µg/ml	58,54±10,24 ^{aeA,2}	90,13±8,41 ^{bcA,1,2}	69,42±5,33^{a,2,3}

^{a,b,c,d,e} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A}Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).

5.3.2. Eşek kazein MCF-7 istatistiksel analiz

Kazein proteinin MCF-7 meme kanserli hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ve absorbanslar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). 48 saat için; kontrol grubu ve absorbanslar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). 72 saat için ortalama değerleri; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulundu ($p<0.05$) (Tablo 7). Konsantrasyonlar arasındaki istatistiki fark ise; 6400 µg/ml ile 1600 µg/ml, 800 µg/ml ve kontrol grubu konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$) (Tablo 7).

Tablo 7. Eşek kazein MCF-7 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00[a]	100±0,00[a]	100±0,00[a,1]
400 µg/ml	97,75±9,61[b]	102,4±11,08[b]	102,4±11,08[b,3]
800 µg/ml	94,61±6,87[c]	100,31±13,11[c]	100,31±13,11[c,1]
1600µg/ml	90,83±10,37[d]	100,33±9,51[d]	100,33±9,51[d]
3200µg/ml	82,96±10,42[e]	91,03±6,46[e]	91,03±6,46[e]
6400µg/ml	58,54±10,24[fA,1]	79,47±5,11[f]	79,47±5,11[abcdA,1,3]

[a,b,c,d,e,f]Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[A]Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki fark önemlidir ($p<0.05$).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).
[3]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki fark önemlidir ($p=0.001$).

5.3.3. Eşek whey A549 istatistiksel analiz

Eşek kolostrum numunesinin fraksiyonlarına ayrılması sonrasında elde edilen whey proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 3200 µg/ml'de ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.001$). Konsantrasyonlar arasındaki istatistiki fark ise; 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 48 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml, 3200 µg/ml'de ($p<0.05$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 72 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$) (Tablo 8).

Tablo 8. Eşek whey A549 bulguları

	24h	48h	72h
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{ad,1,2}	100±0,00^{ad,1,2}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	93,07±3,3^{bd,2}	93,61±4,41^{bd,2}	90,91±11,08^{b,2}
800 µg/ml	91,19±3,91^{cd,2}	98,53±4,84^{cd,2}	91,63±5,49^{c,2}
1600µg/ml	87,66±6,58^{ad,1,2}	98±3,12^{ad,2}	92,79±4,96^{d,2}
3200µg/ml	78,47±8,8 ^{ad,1,2}	99,18±7,12^{ad,1}	82,33±13,08^{a,1}
6400µg/ml	56,98±10,24^{adA,2,1}	98,77±14,05^{ad,2}	69,29±7,41^{abcdA,2,1}

^{a,b,c,d} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A}Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).

5.3.4. Eşek whey MCF-7 istatistiksel analiz

Eşek whey proteinin MCF-7 meme kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml, 800 µg/ml, 1600 ile arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 3200 µg/ml; 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.001$). 48 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 800 µg/ml; 1600 µg/ml ile kontrol grubuyla anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 3200 µg/ml ile kontrol grubuyla arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml, 1600 µg/ml'de ($p<0.001$); 3200 µg/ml'de ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$) (Tablo 9).

Tablo 9. Eşek whey MCF-7 bulguları

	24h	48h	72h
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{a,1,2}	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{ac,2}
400 µg/ml	86,88±8,03^{aA,1}	96,04±2,93^{aA,1}	91,52±2,92^{bc,2}
800 µg/ml	86,65±7,2^{a,1}	91,33±3,77^{a,1}	84,46±3,21^{ac,2}
1600 µg/ml	84,17±7,67^{aB,1,2}	87,66±2,67^{a,1}	66,27±4,59^{acB,2}
3200 µg/ml	78,81±8,37^{aC,2}	77,28±6,48^{a,2}	46,14±9,64^{acC,2}
6400 µg/ml	77,59±6,28^{aD,2}	30,59±9,14^{aD,2}	16,64±5,43^{acD,2}

^{a,b,c} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,,C,D}Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.

[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki fark önemlidir (p<0.001).

5.3.5. Eşek whey 30kda A549 istatistiksel analiz

Eşek whey 30kda proteinin A549 Akciğer kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.05); 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml'de (p<0.001). 6400 µg/ml ile 1600 µg/ml, 800 µg/ml, 400 µg/ml ve kontrol grubu konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml' de (p<0.001); 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml ile 1600 µg/ml, 800 µg/ml, 400 µg/ml ve kontrol grubu konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 72 saat için; 1600 µg/ml' de (p<0.05); 3200 µg/ml, 6400 µg/ml'de ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001) (Tablo 10).

Tablo 10. Eşek whey 30kda A549 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	$100±0,00^{ab,1,2}$	$100±0,00^{ab,1,2}$	$100±0,00^{ab,1,2}$
400 µg/ml	$95,21±2,2^{bb,2}$	$86,1±7,82^{bb,2}$	$96,01±12,14^{bb,2}$
800 µg/ml	$92,78±3,46^{cbA,2,1}$	$74,74±11,01^{cbA,2,1}$	$84,9±11,45^{cb,2}$
1600µg/ml	$92,06±6,27^{abB,1,2}$	$66,34±5,3^{abB,1,2}$	$81,53±11,32^{ab,2}$
3200µg/ml	$82,86±6,32^{acC,2}$	$59,86±2,24^{acC,1}$	$71,22±8,45^{bb,1}$
6400µg/ml	$78±4,79^{abD,2}$	$50,49±8,7^{abD,2}$	$53,53±9,67^{bbD,2}$

[a,b,c] Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[A,B,,C,D]Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki fark önemlidir (p=0.001).
[3]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).

5.3.6. Eşek whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz

Eşek whey 30kda proteinin MCF-7 kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml, 3200 µg/ml, 6400 µg/ml'de (p<0.001). 6400 µg/ml ile 3200 µg/ml (p<0.05). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol

grubu ile 400 µg/ml'de ($p<0.05$); 800 µg/ml; 1600 µg/ml'de ($p<0.001$); 3200 µg/ml'de ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml, 1600 µg/ml'de ($p<0.001$); 3200 µg/ml'de; 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$) (Tablo 11).

Tablo 11. Eşek whey 30kda MCF-7 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	$100±0,00^{ad,2}$	$100±0,00^{a,2}$	$100±0,00^{ab,2}$
400 µg/ml	$95,92±4,25^{bd,2}$	$89,12±5,61^{a,1}$	$90,8±4,69^{bb,2}$
800 µg/ml	$89,16±11,27^{cdA,2,1}$	$81,31±4,57^{a,2,1}$	$76,29±2^{abA,2,1}$
1600µg/ml	$80,51±8,61^{ad,2}$	$75,87±6,42^{a,2}$	$69,33±4,78^{ab,2}$
3200µg/ml	$75,95±6,1^{adB,2,1}$	$66,93±7,54^{a,2}$	$54,89±9,12^{abB,2}$
6400µg/ml	$63,18±3,88^{adC,2,1}$	$54,8±8,35^{a,2}$	$44,22±6,75^{abC,2}$

^{a,b,c,d} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,C}Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark ileri düzeyde önemlidir ($p<0.001$).

5.3.7. İnek kazein A549 istatistiksel analiz

İnek kolostrumdan elde edilen kazein proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml, 6400 µg/ml arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 6400 µg/ml, 3200 µg/ml konsantrasyonları ile 400 µg/ml ($p<0.001$); 800 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 48 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml'de ($p<0.05$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml; 400 µg/ml ile 3200 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 72 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml, 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile 3200 µg/ml konsantrasyonların 400 µg/ml ($p<0.001$) ve 800 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$) (Tablo 12).

Tablo 12. İnek kazein A549 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{ae,2}	100±0,00^{a,2}	100±0,00^{ad,2}
400 µg/ml	97,33±3,77^{be,2}	91,37±13,76^{bf,1}	98,14±5,08^{b,2}
800 µg/ml	93,77±9,95^{ce,1}	92,11±11,55^{c}	93,77±9,95^{b,1}
1600µg/ml	88,41±5,39^{d}	89,12±16,34^{d}	88,41±5,39^{c}
3200µg/ml	77,03±10,02^{ae,2}	83,15±13,38^{ef,1}	77,03±10,02^{ad,2}
6400µg/ml	77,67±5,71^{ae,2}	71,67±9,67^{af,2,1}	77,67±5,71^{ad,2}

^{a,b,c,d,e,f} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).

5.3.8. İnek kazein MCF-7 istatistiksel analiz

İnek kazein proteinin MCF-7 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$); 1600 µg/ml, 3200 µg/ml, 6400 µg/ml ile kontrol arasındaki fark istatistiki açıdan önemliydi ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml; 400 µg/ml, 800 µg/ml ve 1600 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 48 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 3200 µg/ml'de ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$). 3200 µg/ml ile 400 µg/ml ($p<0.05$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 72 saat için; kontrol grubu ile diğer konsantarasyonlarda istatistiki fark belirlenmedi ($p>0,05$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$) (Tablo 13).

Tablo 13. İnek kazein MCF-7 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{abcd,2}	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	87,19±14^{acd,1}	97,06±4,19^{bd,1}	94,57±6,09^{b,2}
800 µg/ml	57,18±6,65^{dA,2}	91,62±7,3^{cA,2}	87,81±15,07^{cA,2}
1600µg/ml	62,03±13,21^{cdB,2}	88,41±5,39^{aB,1}	87,81±15,07^{dB,2}
3200µg/ml	67,97±14,12^{b,2}	82,9±6,66^{ab,2,1}	83,93±10^{e,2}
6400µg/ml	59,97±10,8^{adC,1}	83,4±8,53^{adC,3,1}	52,34±8,69^{abcde,2}

^{a,b,c,d,e} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,C}Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$).

5.3.9. İnek whey A549 istatistiksel analiz

İnek kolostrum whey proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p=0.001$); 1600 µg/ml'de ($p<0.05$); 3200 µg/ml, 6400 µg/ml'de ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml ($p<0.001$). 400 µg/ml ile 800 µg/ml; 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 48 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml ($p=0,001$); 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml'de ($p<0.05$); 1600 µg/ml, 3200 µg/ml, 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml ($p=0,001$); 400 µg/ml, 1600 µg/ml ile 3200 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$) (Tablo 14).

Tablo 14. İnek whey A549 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00[a,3,1,2]	100±0,00[a,2]	100±0,00[a,1,2]
400 µg/ml	92,89±3,48[bcd,1,2]	81,69±8,19[ab,2,3]	88,9±10,66[bcd,3,1]
800 µg/ml	77,11±11,1[ab,3,1]	78,36±6,77[ac,2,1]	76,12±12,55[a,1]
1600µg/ml	77,63±11[a,1]	78,93±7,48[ac,2,1]	71,75±10,39[ad,2,1]
3200µg/ml	72,36±12,53[ad,2]	77,27±3,89[ac,2,1]	67,79±10,61[ac,2,1]
6400µg/ml	67,43±7,45 [ac,2]	67,07±3,06[abc,2,3,1]	64,32±7,62[ab,2,3]

[a,b,c,d] Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).
[3]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p=0.001).

5.3.10. İnek whey MCF-7 istatistiksel analiz

İnek kolostrum whey proteinin MCF-7 kanserli hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml, 1600 µg/ml, 3200 µg/ml, 6400 µg/ml'de (p<0.001). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml (p<0.001); 800 µg/ml (p<0.05); 1600 µg/ml (p<0.05). 6400 µg/ml (p<0.001). 3200 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml'de (p<0.05); 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml'de (p<0.001). 6400 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p=0.001); 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml'de (p=0.001); 1600 µg/ml'de (p<0.001); 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 3200 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001) (Tablo 15).

Tablo 15. İnek whey MCF-7 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,2}	100±0,00^{ac,1,2}	100±0,00^{ab,3,2}
400 µg/ml	93,05±7,18^{b,1}	94,55±4,63^{bc,2}	92,15±2,67^{b,2}
800 µg/ml	52,73±7,85^{abA,2,1}	92,09±4,82^{cA,2}	83,36±7,08^{abA,3}
1600µg/ml	48,69±6,89^{abB,2,1}	87,38±5,55^{acB,1,2}	78,11±6,61^{abB,2}
3200µg/ml	39,93±4,97^{abC,2}	67,23±9,74^{acC,2}	63,31±10,3^{abC,2}
6400µg/ml	37,06±7,74^{ab,2}	43,52±6,41^{ac,2}	45,78±5,08^{ab,2}

^{a,b,c} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,C}Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$).

5.3.11. İnek whey 30kda A549 istatistiksel analiz

İnek whey 30kda proteinin A549 Akciğer kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.05$). 400 µg/ml, 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$). 48 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$); 800 µg/ml'de ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$). 72 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml'de ($p<0.05$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$) (Tablo 16).

Tablo 16. İnek whey 30kda A549 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{a,3}	100±0,00^{ae,2}
400 µg/ml	98,83±10,28^{b,1}	87,25±8,17^{b}	90,52±6,13^{be,2}
800 µg/ml	87,19±9,08^{c}	87,45±7,65^{c}	89,09±7,17^{ce,2}
1600µg/ml	86,62±9,86^{d}	94,47±15,59^{d}	88,72±8,98^{de,2}
3200µg/ml	95,73±13,27^{e,1}	95,86±13,13^{e}	83,57±7,84^{ae,1}
6400µg/ml	76,7±10,74^{abe,1}	78,21±13,03^{a,3}	68,96±5,86^{ae,2}

^{a,b,c,d,e} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.

[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).
[3]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p=0.001).

5.3.12. İnek whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz

İnek whey 30kda proteinin MCF-7 kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonlarının 24 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlılık belirlendi (p<0.05). 6400 µg/ml, 1600 µg/ml, 800 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml; 6400 µg/ml'de istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml'de (p<0.05); 1600 µg/ml'de (p=0.001); 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml'de istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 800 µg/ml ile 3200 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p=0.001) (Tablo 17).

Tablo 17. İnek whey 30kda MCF-7 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{ab,3}	100±0,00^{ae,2}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	107,32±6,5^{bc,2}	94,18±2,9^{be,2}	90,34±7,29^{bc,2}
800 µg/ml	102,26±8,69^{cbA,2}	92,43±7,4^{ce,2}	82,91±7,24^{acA,1,2,3}
1600µg/ml	101,11±11,37^{dbB,2}	84,41±9,34^{de,2}	80,59±6,09^{acB,3,2}
3200µg/ml	91,83±11,89^{edC,1}	71,84±16,29^{aeC,2,3}	63,52±10,03^{acC,2,3}
6400µg/ml	77,7±5,28^{abD,3,2}	45,37±11,63^{aeC,2,3}	41,56±9,24^{acC,2}

[a,b,c,d,e] Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[A,B,C]Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).
[3]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p=0.001).

5.3.13. Keçi kazein A549 istatistiksel analiz

Keçi kolostrum numunesinin fraksiyonlarına ayrılması sonrasında elde edilen kazein proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubunun 24 saat için; 3200 µg/ml ile 400 µg/ml; 1600 µg/ml ile 400 µg/ml (p<0.05). 800 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.05). 48 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml (p=0.001);

800 µg/ml ile 3200 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.05). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml'de (p=0.001); 1600 µg/ml'de (p<0.05); 800 µg/ml ile 6400 µg/ml (p=0.001); 1600 µg/ml ile 3200 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p=0.001); 800 µg/ml ile 3200 µg/ml; 1600 µg/ml ile 6400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.05) (Tablo 18).

Tablo 18. Keçi kazein A549 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{a}	100±0,00^{a,3}	100±0,00^{a,1}
400 µg/ml	80,65±19,69^{bcde,1}	83,48±10,11^{b}	100±0,00^{a,3,1}
800 µg/ml	108,11±18,11^{cA,1,2}	74,75±7$^{adA,3.1,2}$	92,38±6,88^{bA,1}
1600µg/ml	109,81±13,11^{dB,1}	84,96±12,65^{cB,1}	79,48±7,11^{aB,3,2,1}
3200µg/ml	111,44±15,51^{ebC,1}	98,62±11,61^{dC,1}	83,18±4,41^{acC,3,1}
6400µg/ml	104,78±11,72^{f}	88,44±9,32^{e}	102,93±9,94^{c,2}

^{a,b,c,d,e,f} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,C}Aynı satırdaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p=0.001).

5.3.14. Keçi kazein MCF-7 istatistiksel analiz

Keçi kazein proteinin MCF-7 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlılık belirlendi (p=0.001). 1600 µg/ml ile 6400 µg/ml (p<0.05). 800 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.05). 48 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml'de (p<0.001); 800 µg/ml'de (p<0.05); 1600 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.05); 3200 µg/ml, 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 1600 µg/ml ile 400 µg/ml (p<0.05). 800 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.05). 72 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlenmedi (p>0.05) (Tablo 19).

Tablo 19. Keçi kazein MCF-7 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,3}	100±0,00^{a,2}	100±0,00^{a}
400 µg/ml	86,84±10,21^{b,A,1}	70,59±5,94^{abcA,2,1}	92,61±5^{b}
800 µg/ml	90,27±8,16^{c}	83,08±8,14^{ac,1}	96,75±4,93^{c}
1600µg/ml	91,76±10,88^{d,1}	87,14±8,01^{ab,1}	96,98±4,68^{d}
3200µg/ml	85,67±10,08^{e}	75,34±6,08^{a,2}	98,09±7,02^{e}
6400µg/ml	75,07±11,22^{adB,3,1}	80,37±9,49^{aB,2}	94,84±4,37^{f}

^{a,b,c,d,e,f} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B}Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$).

5.3.15. Keçi whey A549 istatistiksel analiz

Keçi kolostrum whey proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için ortalama değerleri; kontrol grubu ile 400 µg/ml, 800 µg/ml, 3200 µg/ml'de ($p<0.05$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ile arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.05$). 48 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml'de, 3200 µg/ml'de ($p<0.05$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ile arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$). 72 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml, 800 µg/ml'de ($p<0.05$); 1600 µg/ml ile 3200 µg/ml'de ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ile arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$). 3200 µg/m ile 400 µg/ml ve 800 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$) (Tablo 20).

Tablo 20. Keçi whey A549 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{a,2}	100±0,00^{a,2,1}
400 µg/ml	92,68±2,66^{a,1}	94,86±5,03^{b}	91,52±2,92^{ab,2,1}
800 µg/ml	91,96±5,1^{a,1}	91,97±3,08^{c}	90,84±2,41^{ab,2}
1600µg/ml	95,03±3,17^{Aa,2}	86,38±10,14^{a,1}	68,71±2,16^{Aa,2}
3200µg/ml	92,78±4,29^{aB,1,2}	87,66±4,61^{a,1}	67,66±2,8^{abB,2}
6400µg/ml	89,93±5,68^{aC,1}	79,4±4,33^{aC,2}	64,94±7,09^{aC,2}

[a,b,c] Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[A,B,C]Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).

5.3.16. Keçi whey MCF-7 istatistiksel analiz

Keçi kolostrum whey proteinin MCF-7 kanserli hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml, 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml'de istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml, 3200 µg/ml'de (p<0.05); 6400 µg/ml'de (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 72 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml, 800 µg/ml ile 1600 µg/ml'de (p<0.001); 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml'de (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001) (Tablo 21).

Tablo 21. Keçi whey MCF-7 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{a,2}	100±0,00^{ad,2}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	97,19±2,06^{bA,2}	97,24±2,16^{bd,2}	84,12±2,72^{aA,2}
800 µg/ml	95,99±4,17^{cbB,2}	94,14±3,44^{cd,2}	83,62±4,36^{aB,2}
1600µg/ml	88,03±5,32^{ab,2}	91,46±3,61^{ad,1,2}	84,78±6,37^{a,2}
3200µg/ml	79,37±5,16^{abC,2}	89,86±6,14^{adC,1,2}	77,76±6,61^{a,2}
6400µg/ml	71,57±3,93^{abD,2,1}	62,09±5,23^{adD,2}	53,66±2,51^{aD,2}

[a,b,c,d] Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[A,B,C,D]Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).

5.3.17. Keçi whey 30kda A549 istatistiksel analiz

Keçi whey 30kda proteinin A549 Akciğer kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml, 1600 µg/ml, 3200 µg/ml'de (p<0.05); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlılık belirlendi (p<0.05). 48 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 72 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml'de (p<0.05); 1600 µg/ml'de

(p=0.001); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.05) (Tablo 22).

Tablo 22. Keçi whey 30kda A549 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{af,2}	100±0,00^{a,1}
400 µg/ml	94,26±5,16^{b}	102,46±13,3^{bf,2}	84,37±7,12^{a,1}
800 µg/ml	90,92±6,78^{a,1}	101,17±12,23^{cf,2}	90,77±10,6^{b}
1600µg/ml	89,11±6,62^{aA,1,2}	117,89±8,87^{dfA,2}	80,88±10,71^{a,3}
3200µg/ml	86,94±4,49^{a,1}	97,19±11,03^{ef,2}	91,85±4,8^{c}
6400µg/ml	76,64±3,69^{a,1}	67,28±10,15^{af,2}	81,53±4,82^{a,1}

^{a,b,c,d,e,f} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A}Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p=0.001).

5.3.18. Keçi whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz

Keçi whey 30kda proteinin MCF-7 kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml'de (p<0.05); 800 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlılık belirlendi (p<0.05). 48 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 72 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml, 3200 µg/ml'de (p<0.05); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001) (Tablo 23).

Tablo 23. Keçi whey 30kda MCF-7 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{af,2}	100±0,00^{ad,2}
400 µg/ml	83,89±11,16^{a,1}	95±8,16^{bf,2}	83,53±9,1^{ad,1,2}
800 µg/ml	83,84±8,98^{a,1}	93,48±3,27^{cf,2}	89,79±10,53^{bd,2}
1600µg/ml	93,75±3,9^{b}	99,21±9,19^{df,2}	89,85±10,58^{cd,2}
3200µg/ml	94,5±4,22^{c}	90,65±7,54^{ef,2}	82,92±4,87^{ad,1,2}
6400µg/ml	88,83±5,09^{dA,2}	66,3±11,33^{afA,2}	59,07±5,31^{adA,2}

^{a,b,c,d,e,f} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade

edilmiştir.
[A]Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).

5.3.19. Koyun kazein A549 istatistiksel analiz

Koyun kolostrum numunesinin fraksiyonlarına ayrılması sonrasında elde edilen kazein proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubunun 24 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlılık belirlendi (p=0.001). 3200 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml'de (p<0.05); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi (p=0.001). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml, 1600 µg/ml, 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml; 1600 µg/ml; 800 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001) (Tablo 24).

Tablo 24. Koyun kazein A549 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{ae,2,3}	100±0,00^{a,1,3}	100±0,00^{ac,2}
400 µg/ml	87,98±11,19^{be,2}	91,92±6,29^{b}	88,2±10,3^{bc,2}
800 µg/ml	89,69±6,36^{ce,2}	90,06±5,99^{c}	74,47±10,25^{ac,2}
1600µg/ml	88,04±11,34^{deA,2,1}	86,76±11,39^{d}	69,45±4,37^{acA,2,1}
3200µg/ml	60,79±8,88^{aeB,2,1}	80,49±11,13^{aB,1}	29,38±4,13^{aB,2}
6400µg/ml	78,24±7,55^{aeC,3,1}	77,7±9,18^{a,3}	35,01±5,8^{acC,2}

[a,b,c,d,e] Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[A,B,C]Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
[1] Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
[2]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).
[3]Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p=0.001).

5.3.20. Koyun kazein MCF-7 istatistiksel analiz

Koyun kazein proteinin MCF-7 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml'de, 3200 µg/ml ve 6400 µg/ml'de istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml,

3200 µg/ml ile 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001); 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 72 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml'de, 1600 µg/ml'de, 3200 µg/ml'de ile 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml; 800 µg/ml ile 400 µg/ml diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001) (Tablo 25).

Tablo 25. Koyun kazein MCF-7 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{ad,2}	100±0,00^{ad,2}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	97,08±6,45^{bd,2}	91,37±5,91^{bd,2}	96,99±7,4^{b,2}
800 µg/ml	96,22±3,56^{cdA,2}	86,95±13,31^{cd,2}	65,37±10,5^{abA,2}
1600µg/ml	80,2±10,89^{adB,2}	80,95±7,13^{ad,1,2}	45,54±13,39^{aB,2}
3200µg/ml	79,47±8,68^{adC,2,1}	58,21±9,71^{adC,2}	39,23±8,82^{aC,2}
6400µg/ml	58,45±4,85^{adD,2}	28,48±8,09^{adD,2}	37±9,55^{abD,2}

^{a,b,c,d} Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,C,D}Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.05).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p<0.001).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir (p=0.001

5.3.21. Koyun whey A549 istatistiksel analiz

Koyun kolostrum whey proteinin A549 tümörlü hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml'de (p<0.05); 800 µg/ml'de (p<0.001); 1600 µg/ml'de (p=0.001); 3200 µg/ml, 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlılık belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml; 1600 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001). 48 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml, 1600 µg/ml, 3200 µg/ml, 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi (p<0.001). 6400 µg/ml; 1600 µg/ml; 800 µg/ml ile 400 µg/ml diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.05). 72 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml, 800 µg/ml, 1600 µg/ml, 3200 µg/ml'de (p<0.001); 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir (p<0.001) (Tablo 26).

Tablo 26. Koyun whey A549 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,1,2,3}	100±0,00^{a,2}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	81,62±6,85^{ab,1}	96,5±5,83^{b,1}	77,27±6,93^{a,2}
800 µg/ml	70,61±10,61^{aA,2}	75,74±6,37^{ab,2,1}	69,95±10,41^{aA,2}
1600µg/ml	79,23±4,95^{ab,2,3}	77,42±6,32^{ab,2}	67,86±6,33^{a,2}
3200µg/ml	61,38±9,69^{aB,2}	66,72±8,58^{aB,2}	75,73±10,01^{aB,2}
6400µg/ml	59,55±9,08^{abC,2,1}	64,76±4,84^{abC,2,1}	51,28±5,52^{a,2}

^{a,b}Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,C}Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$).

5.3.22. Koyun whey MCF-7 istatistiksel analiz

Koyun kolostrum whey proteinin MCF-7 kanserli hücrede kontrol grubu ve farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml, 800 µg/ml, 1600 µg/ml, 3200 µg/ml'de ($p<0.001$); 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.001$). 48 saat için; kontrol grubu ile 400 µg/ml'de ($p<0.05$); 800 µg/ml'de ($p=0.001$); 1600 µg/ml; 6400 µg/ml ile kontrol grubu arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$). 72 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p=0.001$) (Tablo 27).

Tablo 27. Koyun whey MCF-7 bulguları

	24h Ort±Sd	48h Ort±Sd	72h Ort±Sd
Kontrol	100±0,00^{a,2}	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{a,1}
400 µg/ml	74,85±7,07^{a,2}	85,12±8,62^{a,1}	89,34±11,62^{b}
800 µg/ml	60,41±10,88^{aA,2,1}	80,17±8,06^{aA,3,1}	86,51±10,26^{cA,2}
1600µg/ml	75,14±5,93^{a,2,1}	85,21±8,4^{a,1}	87,04±10,8^{d}
3200µg/ml	62,93±12,21^{aB,2}	89,72±6,04^{bB,2,1}	85,18±10,35^{eB,2}
6400µg/ml	64,06±11,06^{aC,2,1}	83,22±10^{aC,1}	75,69±6,09^{a,3}

^{a,b,c,d,e}Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B,C}Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).
^{3}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p=0.001$).

5.3.23. Koyun whey 30kda A549 istatistiksel analiz

Koyun whey 30kda proteinin A549 Akciğer kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu ile 3200 µg/ml, 6400 µg/ml arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.05$). 48 saat için; kontrol grubu ile 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.05$). 72 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml ($p<0.05$); 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml'de istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 6400 µg/ml; 800 µg/ml ile 400 µg/ml ($p<0.001$). 3200 µg/ml; 800 µg/ml ile 400 µg/ml konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$) (Tablo 28).

Tablo 28. Koyun whey 30kda A549 bulguları

	24h	**48h**	**72h**
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{a,1}	100±0,00^{ad,1,2}
400 µg/ml	96,07±3,69^{b}	93,56±6,77^{b}	96,71±6,24^{bde,2}
800 µg/ml	96,27±4,6^{c}	91,95±6,94^{c}	92,19±6,41^{cbde,2,1}
1600µg/ml	91,46±3,22^{d}	88,82±7,72^{d}	81,63±9,32^{a,1}
3200µg/ml	87,27±8,85^{a,1}	85,69±7,68^{e}	73,46±8,56^{ad,2}
6400µg/ml	87,05±8,92^{a,1}	80,17±14,56^{a,1}	71,77±10,96^{ae,2}

^{a,b,c,d,e}Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).

5.3.24. Koyun whey 30kda MCF-7 istatistiksel analiz

Koyun whey 30kda proteinin MCF-7 kanser hücresinde kontrol grubu ile farklı konsantrasyonların 24 saat için; kontrol grubu, 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml arasında anlamlılık belirlendi ($p<0.05$). 6400 µg/ml ile diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 48 saat için; kontrol grubu ile 800 µg/ml'de, 1600 µg/ml' de ($p<0.05$); 3200 µg/ml, 6400 µg/ml ile kontrol grubu ve diğer konsantrasyonlar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$). 72 saat için; kontrol grubu ile 1600 µg/ml, 3200 µg/ml, 6400 µg/ml arasında anlamlı fark belirlendi ($p<0.001$). (Tablo 29).

Tablo 29. Koyun whey 30kda MCF-7 bulguları

	24h	48h	72h
	Ort±Sd	**Ort±Sd**	**Ort±Sd**
Kontrol	100±0,00^{ae,1,2}	100±0,00^{ac,1,2}	100±0,00^{a,2}
400 µg/ml	95,9±2,73^{be,2}	92,71±6,43^{b}	96,87±3,39^{b}
800 µg/ml	92,04±6,31^{ce,2}	87,26±6,63^{ac,1,2}	95,43±4,57^{c}
1600µg/ml	89,14±9,25^{de,2}	82,57±10,75^{ac,1,2}	82,06±7,65^{ad,2}
3200µg/ml	84,08±7,11^{aeA,1,2}	71,51±7,11^{acA,2}	61,83±11,54^{adA,2}
6400µg/ml	59,59±10,28^{aeB,1,2}	41,78±6,06^{acB,2}	12,83±1,90^{adB,2}

^{a,b,c,d,e}Aynı sütundaki absorbanslar arasında anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{A,B}Aynı satırda absorbanslar arasındaki anlamlılık düzeyi faklı olanlar aynı harflerle ifade edilmiştir.
^{1} Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).
^{2}Aynı sütunda aynı rakamla gösterilen absorbanslar arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.001$).

5.4. IL-2, IL-6 ve TNF-α Sitokin Düzeyleri

Çalışmamızda kullandığımız inek, koyun, keçi ve eşek gibi farklı türlerden elde edilen whey proteinlerdeki sitokin düzeylerini belirlemek amacıyla sandviç ELISA testi kullanıldı. IL-2, IL-6 ve TNF-α standart eğim çizimi şekil 36'da verilmiştir.

5.4.1. IL-2 sitokin düzeyi

Çalışmamızda, farklı hayvan numuneler arasında yüksek düzeyde sitotoksik etki gösteren 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml olan konsantrasyonlardaki IL-2 düzeyi bulundu. IL-2 düzeyi en fazla koyun whey 30kda olan 3200 µg/ml konsantrasyonda olup, R^2= 0,9949 değeri olarak bulundu (Tablo 30).

Tablo 30. Farklı hayvan türlerindeki IL-2 düzeyleri

Konsantrasyon(µg/ml)	Ort±Sd	P Değeri
Kontrol	291,62±2,02	
Koyun whey 30kda 6400	215,53±23,83	p<0.05
Koyun whey 30kda 3200	284,47±4,46	p>0,05
Keçi whey 30kda 6400	140,84±12	p<0.001
Keçi whey 30kda 3200	151,66±22,41	p<0.001
Eşek whey 30kda 6400	129,79±32,55	p<0.001
Eşek whey 30kda 3200	167,98±30,61	p=0.001
İnek whey 30kda 6400	126,6±6,1	p<0.001
İnek whey 30kda 3200	174,18±6,23	p<0.05
Eşek whey 6400	119,78±1,6	p<0.001
Eşek whey 3200	153,32±0,0	p<0.001
İnek whey 6400	136,52±6,82	p<0.001
İnek whey 3200	191,19±7,03	p<0.05

5.4.2. IL-6 sitokin düzeyi

Çalışmada kullandığımız inek, koyun, keçi ve eşek numuneleri arasında IL-6 düzeyi yüksek olan konsantrasyonlar 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml olarak bulundu. En yüksek IL-6 düzeyi, koyun whey 30kda türünde 6400 µg/ml olan konsantrasyonda olup, R^2= 0,9861 değeri olarak bulundu (Tablo 31).

Tablo 31. Farklı hayvan türlerindeki IL-6 düzeyleri

Konsantrasyon(µg/ml)	Ort±Sd	P Değeri
Kontrol	95,25±4,45[a]	
Koyun whey 30kda 6400	81,55±1,612[b]	p>0,05
Koyun whey 30kda 3200	75,77±0,52[a]	p<0.05
Keçi whey 30kda 6400	49,3±12[a]	p<0.001
Keçi whey 30kda 3200	54,8±0,73[a]	p<0.001
Eşek whey 30kda 6400	64,63±0,92[a]	p<0.001
Eşek whey 30kda 3200	56,57±8,3[a]	p<0.001
İnek whey 30kda 6400	47,11±0,54[a]	p<0.001
İnek whey 30kda 3200	52,93±1,21[a]	p<0.001
Eşek whey 6400	42,05±7,02[a]	p<0.001
Eşek whey 3200	42,86±10,88[a]	p<0.001
İnek whey 6400	46,95±4,11[a]	p<0.001
İnek whey 3200	60,55±3,04[a]	p<0.001

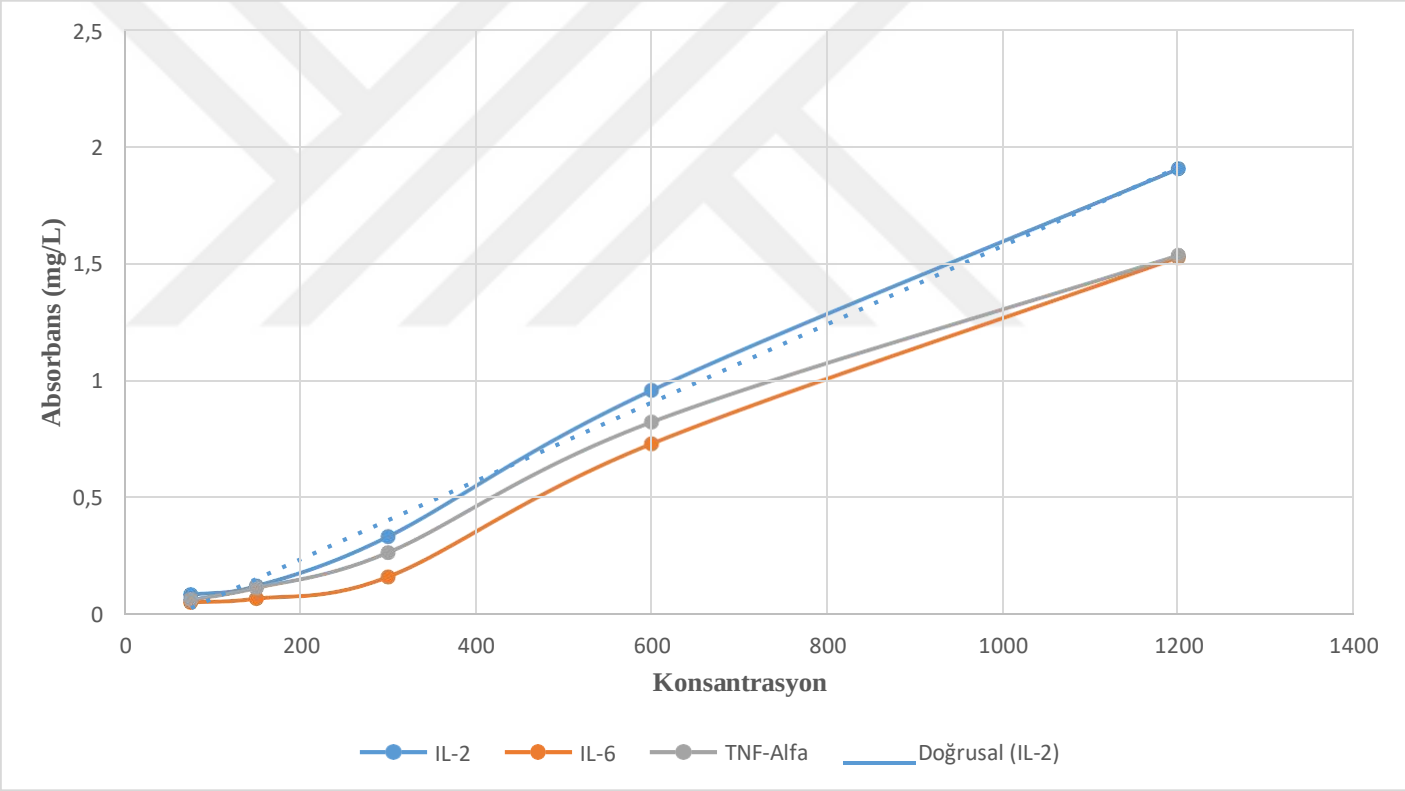
5.4.3. TNF-α Sitokin Düzeyi

Çalışmamızda kullandığımız inek, koyun, keçi ve eşek numuneleri arasında TNF-α düzeyleri yüksek olan konsantrasyonlar 3200 µg/ml ile 6400 µg/ml olarak bulundu.

En yüksek TNF-α düzeyi, koyun whey 30kda olan 3200 µg/ml konsantrasyonda olup, R^2= 0,9915 olarak bulundu (Tablo 32).

Tablo 32. Farklı hayvan türlerindeki TNF-α düzeyleri

Konsantrasyon(µg/ml)	**Ort±Sd**	**P Değeri**
Kontrol	133,5±11,8	
Koyun whey 30kda 6400	70,18±0,79	P<0,001
Koyun whey 30kda 3200	78,19±6,57	p<0.001
Keçi whey 30kda 6400	44,66±1,97	p<0.001
Keçi whey 30kda 3200	51,96±4,76	p<0.001
Eşek whey 30kda 6400	56,03±0,35	p<0.001
Eşek whey 30kda 3200	73,69±6,72	p<0.001
İnek whey 30kda 6400	46,55±0,89	p<0.001
İnek whey 30kda 3200	57,65±1,14	p<0.001
Eşek whey 6400	42,42±1,72	p<0.001
Eşek whey 3200	54,05±1,56	p<0.001
İnek whey 6400	43,34±0,39	p<0.001
İnek whey 3200	54,86±0,83	p<0.001



Şekil 36. IL-2, IL-6 ve TNF-α standart eğim çizimi

6. TARTIŞMA

Kanser, bir organ veya dokulardaki hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla gelişen kötü huylu veya iyi huylu tümörlere verilen genel addır. Kanser hastalığında çeşitli nedenlere bağlı olarak hücrelerin aşırı ve düzensiz olarak bölünmeleri durumu söz konusudur. Kötü huylu hücreler bölündükçe ve vücuda yayıldıkça metastas yeteneği kazanırlar. Akciğer kanseri, dünyada ve ülkemizde çok sık görülen kanser türü olmakla birlikte kanser nedeniyle gerçekleşen ölüm sıralamasında ilk sırada yer almaktadır (122). Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) ve küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) olarak akciğer kanseri iki grupta sınıflandırılması yapılan heterojen bir hastalıktır (123).

Kanser tedavisi; başlıca uygulanan cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve immünoterapiyi içermektedir (124). Genel olarak kanser hastalığında sıklıkla tercih edilen kemoterapi, normal hücrelerde de toksisite göstererek sağlıklı hücreler üzerine olumsuz etki oluşturmakta, bu da bazen ömür boyu sürebilen geri dönüşümsüz yan etkilere sebep olabilmektedir. Ayrıca kemoterapi alan hastanın immün sistemi düşmekle birlikte mide bulantısı, kusma, ishal, saç dökülmesi, yorgunluk ve ağız yaraları gözükmektedir. Bu dezavantajlar, minimum yan etkilere sahip olan tedavi stratejileri ve tedavi destekleyicileri geliştirme ihtiyacını zorunlu hale getirmektedir (125). Bizde çalışmamızda; insan sağlığına sağladıkları çok sayıda yararlar ve toksik olmamaları nedeniyle kolostrum bileşenlerinin, farklı kanser hücrelerde (A549 ve MCF-7) antikanser rolünü belirleyip kanser tedavisinde yeni bir yaklaşım şekli ortaya koyabilmeyi amaçladık. Kolostrum; düşük kolesterol, düşük laktoz, bazı mineral maddeler (sodyum, potasyum, demir, bakır, çinko ve magnezyum), laktoferrin, serum albümin, Omega-3 (α-linolenik asit), Omega-6 (linoleik asit) yağ asitleri, laktoperoksidaz, beta-laktoglobulin, yüksek oranda immunoglobulinler, lizozim gibi koruyucu protein içeriği nedeniyle normal sütlerinden farklıdır. Kolostrum sarılık, hipertansiyon, astım, diyabet gibi birtakım hastalıklarda tedavi sağlamak amacıyla özellikle binlerce yıl önce Hindistan'da fiziksel rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır. İkinci dünya savaşına kadar doğal antibiyotik olarak kullanılan kolostrum, 1950'li yıllarda romatizmal eklem iltihaplanmasının tedavisinde sık olarak

tercih edilmiştir. Whey proteini ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda bu proteinlerin antioksidan, antibakteriyel, hipoglisemik aktivite, antiviral, antifungal, antikanser ve yaşlanmayı önleyici gibi etkileri olduğu şeklinde bulgular mevcuttur (126).

Kolostrumun yapısı daha çok kanın yapısını andırır. Bunun da fizyolojik açıdan önemi vardır ve yeni doğan yavrunun beslenmesine uygunluk sağlar. (127). Hayvanın ırkı, yaşı, beslenmesi, doğum sayısı, çevresel koşullar ve sağlık durumunun süt bileşimini etkilediği iyi bilinmektedir. Kolostrum, bileşim olarak sütten bazı farklılıklar göstermekte ve yenidoğanın beslenme gereksinimlerini yüksek oranda karşılamaktadır (128). Süt salgısı hem lokal hem de sistemik faktörler tarafından düzenlenir. Bölgesel ve çevresel faktörler, meme içi basıncına bağlı olarak meme salgı miktarında farklılık gösterebilir (129).

Süt whey ve kazein proteinleriyle ilgili farklı çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda özellikle peynir altı suyu proteinlerinin etkileri önem kazanmıştır. Kazein proteini sütteki pellet kısmını oluşturur, süpernatant dediğimiz sıvı kısım ise peyniraltı suyudur. Bizde çalışmamızda inek, koyun, keçi ve eşek kolostrumlarından whey ve kazein proteinlerini elde ettik. Elde edilen peyniraltı suyu; vitamin, protein ve çok az miktarda da süt yağı içermektedir. Ayrıca peyniraltı suyu proteini içerisinde yüksek miktarda sülfür içeren aminoasitlerin bulunması antioksidan aktivite gösterdiğini desteklemektedir (130).

Peynir altı suyunda bulunan proteinler; α- laktalbümin, β-laktaglobülin, lizozim, laktoferrin, serum albümin ve immünoglobülinlerdir. Bu proteinlerinin birçoğunun antikarsinojenik etki gösterdiği çalışma verileri bulunmaktadır (131). Sütte peyniraltı suyunun yanısıra kazein proteini de bulunmaktadır (132). Çalışmamızda inek, koyun, keçi ve eşek kazeinlerinden sadece koyun kazeinin A549 ve MCF-7 kanserli hücrelerde %70 düzeyinde sitotoksik etki gösterdiğini belirledik.

Fakharany ve ark., yapmış oldukları çalışmada insan, inek ve deve sütünde bulunan albümin proteinin $CaCO_2$, HepG-2, PC-3 ve MCF-7 hücrelerine karşı albümin-oleik asit kompleksinin doza bağımlı tümörlü hücreleri MTT yöntemine göre inhibe ettiği gösterilmiştir (133). Bu çalışmada inek ve eşek kolostrumların MCF-7 hücrelerine karşı doza ve zamana bağlı olarak MTT yöntemine göre sitotoksik aktivite gösterdiğini bulmuşlar, Fakharany ve ark. bulgularını destekler niteliktedir. Fakharany

ve ark., inek kazein proteinin en yüksek sitotoksik aktivite gösterdiğini söylerken, çalışmamızda en yüksek sitotoksik aktivite koyun kazeininde (tümör canlılık oranı %37) gözlenmiş ve sonrasında inek kazeini (tümör canlılık oranı %52,34) olarak belirlenmiştir.

Mao ve ark., eşek sütünün bileşenlerini çeşitli fraksiyonlarına ayırarak A549 hücre hatlarında anti-proliferatif etkilerini inceledikleri bir çalışmada, eşek ve sığır peynir altı suyu proteinlerinin A549 ve MCF-7 hücrelerine karşı sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu, whey proteinlerini fraksiyonlara ayırdıktan sonra A549 ve MCF-7 hücrelerine karşı en etkili anti-proliferatif etkinin molekül kütlesi 10 kDa'dan daha büyük olanlarda gerçekleştiğini, eşek sütünün immün sistemi aktifleşitirici etkisiyle bağışıklığı geliştirmeye katkıda bulunabileceği ve bunun sonucunda tümör hücrelerini apoptoz yoluyla yok edebileceğini ileri sürmüşlerdir (134). Ayrıca A549 tümör hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasını önleyen TNF-α, IL-a, IFN-y, IL-6, IL-1β sitokinlerin üretimini uyarma kapasitesine sahip olduğunu rapor etmişlerdir (134). Bizim çalışmamızda TNF-α, IL-2 ve IL-6 sitokin düzeyleri inek ve eşek whey proteinlerinin A549 ve MCF-7 hücrelerine karşı anti-proliferatif etki göstermiş olması, Mao ve ark. (134) yapmış olduğu çalışmayla benzerlik göstermektedir.

Klurfeld ve ark., kolon ve meme bezlerinde tümör hücreleri bulunan sıçanlara kazein ve yağsız süt tozu verilmesinin tümör oluşumunu azaltıcı etkisinin olduğunu ileri sürmüşlerdir (135). Çalışmamızda koyun kazeininin meme kanser hücresini 6400 ug/ml dozda 72 saatte %63 oranında öldürdüğü ve IC50 değeri 3383 µg/ml olduğu, koyun kazeininin akciğer kanser hücresinde ise 6400 µg/ml dozda 72 saatte kanser hücresini %70,62 oranında ödürdüğü ve IC50 değerinin 3612 µg/ml olduğu saptandı. Elde edilen bulgular Klurfeld ve ark., yapmış oldukları çalışmanın bulgularıyla paralellik gösterdi.

McIntosh ve ark., çalışmalarında süt ürünlerindeki proteinlerin, özellikle peynir altı suyu proteinlerinin kanseri önlemede önemli bir rol oynadığı sonucuna varmışlardır (136). Çalışmamızda, inek ve eşek whey proteinlerinin sırasıyla akciğer kanserinde en yüksek doz olan 6400 µg/ml dozda 72 saatte kanser hücrelerini %36,68; %30,71 oranında öldürdüğü; inek ve eşek whey proteinlerinin sırasıyla meme kanserinde en yüksek doz olan 6400 µg/ml dozda 72 saatte kanser hücrelerini %62,94;

%83,36 oranında öldürdüğü ortaya çıkmıştır.

Park ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, inek sütünün ve kazeinin farklı hücre hatları üzerinde proliferasyonunu değerlendirdikleri bir çalışmada, α- kazein ve total kazeinin (0,1 ve 1 mg /mL) normal prostat hücre hattında (RWPE1), insan embriyonik hücre hattında (HEK-293), A459, mide kanseri hücre hattında (SN4484), MCF-7 hücre hattında proliferasyona etki etmediğini ileri sürmüşlerdir (137). Yaptığımız çalışmada inek kazeininde yüksek dozda A549 hücrede %77,67; MCF-7 hücrelerinde ise %52,34 hücre canlılık oranlarıyla zamana bağlı olarak sınırlı düzeyde hücre ölümü gerçekleştiği sonucuna vardık.

Akca ve ark., yapmış oldukları bir çalışmada eşek sütünün in vitro ortamda akciğer kanseri hücre hattında sitotoksisite ve genotoksisiteye sebep olduğunu belirtirken (138), Esener ve ark., yaptıkları bir diğer çalışmada eşek sütü ile beslenen Swiss albino fare türünde tümör hacminin kontrol grubuna kıyasla %68,98 arttığını rapor etmişlerdir (139). Çalışmamızda eşek whey proteinin in vitro ortamda akciğer kanseri hücre hattında 6400 ug/ml dozda 72 saatte kanser hücreleri üzerine %30 sitotoksik etki gösterdiği sonucuna vardık. Hakannson ve ark., yapmış oldukları çalışmada, sığır sütünden elde edilen Lf proteinin meme kanser hücresinde MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5- (3-carboxymethoxyphenyl)-2- (4 sulfophenyl)-2H tetrazolium] metoduna göre sitotoksik etki göstererek tümörlü hücreleri azalttığını bildirmektedirler (140). Yapılan çalışmada inek whey 30kda içerisinde konsantre olarak elde edilen laktoferrin proteinin meme kanser hücresinde MTT yöntemine göre doza ve zamana bağlı olarak sitotoksik etki gösterdiği ve meme tümörlü hücre sayısını %60 gibi yüksek oranda öldürdüğü belirlendi. Tomita ve ark., in vivo olarak sıçanları sığır Lf içeren bir diyetle besleyip mide-bağırsaklarında laktoferrisin B'nin üretimini sağladıkları çalışmalarında, Lf'in apoptozis nedeniyle hücre büyümesini azalttığını, bunun da peptidine (laktoferrisin) bağlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir (141). Bizim yaptığımız çalışmada ise in vitro ortamda Lf proteinin apoptozis olarak MCF-7 hücre ölümünü gerçekleştirebileceği görülmüştür.

Şahna, keçi sütü kazein ve serum fraksiyonlarının enzimatik muamelesinden elde edilen peptidlerin MCF-7 kanserli hücreleri öldürdüğünü en yüksek hücre ölüm oranının keçi sütü kazein fraksiyonunun pepsin ile muamelesinden elde edilen

peptidlerden elde edildiğini bildirmiştir (142). Çalışmamızda ise keçi kolostrumun fraksiyonları sonrası elde edilen kazein ve serum proteinlerinin MCF-7 kanserli hücrelere uyguladığımızda hücre ölüm oranları; inek whey'de %63, keçi kazein %20, koyun kazeinde ise %63'dür. Dolayısıyla yukarıdaki tez çalışmasında MCF-7 kanserli hücrelerde en yüksek hücre ölüm oranının keçi sütü kazeinde bulunmuş, yaptığımız çalışmada MCF-7 kanserli hücrelerin keçi kazeininde hücre ölüm oranının keçi kazeininde sınırlı düzeyde (%20) olduğunu, inek whey ve koyun kazeinde yüksek düzeyde hücre ölümünü tespit ettik. Bu uyumlu olmayan veri sonuçlarının enzimatik pepsin ile muamelesinden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

İn vivo ve in vitro bazı çalışmalarda, deve süt proteinlerinin meme, karaciğer ve kolon kanseri ilerlemesini durdurduğu ileri sürülmüştür (143,144). Bizim çalışmamızda meme kanser hücresinin ilerlemesine yüksek oranda inhibe edici etki gösteren (yaklaşık olarak %80) eşek whey proteinidir.

Damiens ve ark., MDA-MB-231, HBL-100 ve MFC-7 meme kanseri hücre hatları ve kolorektal adenokarsinoma hücre hattı (HT-29) üzerinde insan laktoferrininin etkilerini incelemişlerdir. MDA-MB-231, p53'ün mutant formunu eksprese eden özel bir hücre hattıdır. Çalışma sonunda laktoferrinin, meme ve kolon epitel hücre tümörlerinde çoğalmayı, G_1 safhasında büyümenin durmasını tetikleyerek inhibe ettiğini ileri sürmüşlerdir (145). Bizim çalışmamızda farklı türlerdeki kolostrum numuneleri 30kda'lık ultrafiltrasyon membrandan geçirildikten sonra elde edilen laktoferrinin (eşek, inek, keçi ve koyun hücre ölüm oranları sırasıyla; %56, %59, %41, %87) MFC-7 hücrenin büyümesini inhibe ettiği ve MCF-7 tümörlü hücreleri yüksek düzeyde inhibe eden koyun laktoferrini olduğu belirlendi.

Yu-Tang Tung ve ark., yapmış oldukları bir çalışmada, bLF'nin A549 hücresine uygulaması sonrasında TNF-α, IL-4, IL-6 ve IL-10 konsantrasyonlarını azalttığı, bLF'nin sitokin seviyesini azaltarak akciğer kanseri tedavisinde önemli bir potansiyel oluşturabileceği, bunun da A549 hücre büyümesinde kısıtlamalara yol açabileceği sonucuna varmışlardır (146). Bu çalışmada inek Lf'nin TNF-α, IL-2, IL-6 A549 hücre düzeylerini konsanrasyona bağlı azalttığı ve kanser hücresi proliferasyonunu inhibe ederek ve kanser hücresi apoptozunu uyarabildiği saptandı. Elde edilen sonuçlar Yu-Tang Tung ve ark., yapmış oldukları çalışmayla uyum gösterdi.

Gervais ve ark., peyniraltı suyu proteinleriyle besledikleri sıçanlarda, MCF-7 meme tümörlerinde doza bağlı olarak kanserli hücre sayısında azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Aynı araştırmacılar yaptıkları diğer bir calışmada, dimetilbenzaldehit (DMBA) ile induklenmiş meme tümörlü sıçanlarda süt serumu proteinlerinin yaşa bağlı tümör gelişimini geciktirdiğini saptamışlardır (147). Yaptığımız çalışmada peyniraltı suyu proteinin MCF-7 tümörlü hücrede sitotoksik etki gösterdiği sonucu in vitro ortamda da benzer sonuç verdiğini göstermektedir.

Karagözlü ve Bayerer, yaptıkları çalışmada peyniraltı suyunda bulunan proteinlerinin tamamının antikarsinojenik etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (148). Yaptığımız çalışmada ise, 30kda por çaplı membran sonrası elde edilen peyniraltı suyu proteinlerinin (α-laktalbümin, β-laktaglobülin, lizozim, laktoferrin ve serum albümin) A549 ve MCF-7 hücrelere karşı antiproliferatif etki gösterdiği sonucuna ulaştık. Bu antiproliferatif etkinin yüksek dozda MCF-7 hücrelerinde daha yüksek etki gösterdiğini söyleyebiliriz.

Eşek sütünde yüksek miktarda lizozim proteini bulunmaktadır. İbrahim ve ark., tarafından yapılan bir çalışmada whey proteininde bulunan lizozimin anti-inflamatuar ve anti-tümörel aktiveteye sahip olduğu bildirilmektedirler (149). Çalışmamızda 30 kda whey proteininin A549 ve MCF-7 hücrelerinde kanserli hücreleri öldürerek anti-tümörel aktivete gösterdiği sonucuna varıldı.

Shariatikia ve ark., farklı türdeki hayvanlardan elde ettikleri whey ve kazein proteinlerini MCF-7 hücrelerine uyguladıkları bir çalışmada eşek, inek whey proteinleri ve bunların kazeinlerinin MCF-7 hücrelerine karşı güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir (150). Yapılan çalışmada whey ve kazein proteinlerini MCF-7 hücrelerine uyguladığımızda eşek ve inek whey proteinlerinin kazein proteinlerine nazaran 6400 µg/ml dozda daha güçlü bir antikanser aktiviteye sahip olduğu tespit edildi. Shariatikia ve ark., koyun ve keçi sütü ile kazeinlerinin herhangi bir antikanser aktiviteye sahip olmadığı bildirmektedirler. Çalışmamızda ise 30 kda koyun peynir altı suyu proteinin yaklaşık olarak %87 ve koyun kazeinin yaklaşık olarak %67 gibi yüksek oranda MCF-7 hücrelerini öldürdüğü ve güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu sonucuna ulaştık. Elde ettiğimiz bu sonuç Shariatikia ve ark., yapmış oldukları çalışma sonuçlarıyla farklılık göstermekle birlikte

bu farklılığın sebebinin kullanılan MTT yöntem farklılığı ve koyun kolostrum kazein olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

7. SONUÇ

Kolostrum yapısında farklı proteinler içerirler. Memeli kolostrum proteinlerinin yaklaşık %82'si kazeindir ve kalan %18'i peynir altı suyu proteinleridir. Bu çalışmada, farklı türdeki hayvanların kolostrumlarında bulunan kazeinler ve peynir altı suyu proteinlerinin antiproliferatif aktiviteleri test edildi. Peynir altı suyu proteininde, MCF-7 hücrelerine karşı en yüksek antiproliferatif etkinin sırasıyla 30 kda koyun peynir altı suyu, eşek peynir altı suyu proteini ve ardından inek peynir altı suyu proteininde olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlarla eşek peynir altı suyu proteini tüketiminin, akciğer kanserli hastaların yüksek besin içeriği sayesinde bağışıklık sistemini olumlu yönde etkileyerek kemoterapi gören kanser hastalarının daha iyi beslenmesine katkı sunabileceği söylenebilir. Kazeinlerde ise MCF-7 hücrelerine karşı en yüksek antiproliferatif etkinin koyun kazeinde olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçların meme kanserinde hekimliğe katkıda bulunabilecek hücresel ve moleküler mekanizmaların araştırılmasına öncülük edebileceği düşünülmektedir.

Çalışmadan elde edilen bulgular antikanser aktivitenin peynir altı suyu proteininde yüksek, kazeinde ise daha düşük düzeyde olduğu ve bu etkinin hayvan türlerine, doza ve zamana bağlı olarak farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur.

İnek ve eşek whey proteini ile whey proteinlerinden molekül kütlesi 90 kDa' dan küçük olanlar da TNF-α, IL-2 ve IL-6 sitokin düzeylerinin A549 ile MCF-7 hücrelerine karşı anti-proliferatif etki göstermeleri, inek ve eşek whey proteinlerinin sitokinlerin üretimini uyarma kapasitesine sahip olduğunu ve sitokin güçlenmesini destekleyebileceğini düşündürmektedir. LF ile zenginleştirilmiş gıda ürünlerinin tüketimi MCF-7 tümörlü hücreleri önlemede veya tedaviyi desteklemede doğal bir yöntem olabilir.

Elde ettiğimiz verilere göre doğal bileşik olan inek, eşek peynir altı suyu proteinlerinin ve koyun kazeinin antiproliferatif etkisinin olduğu, bu proteinlerin akciğer ile meme kanser hastalarının tedavisinde iyi birer aday olabileceği ayrıca yapılacak daha ileriki çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Topal T, Öter Ş, Korkmaz A. Melatonin ve Kanserle İlişkisi. Genel Tıp Derg. 2009;19(3):137–43.
2. Kaplan E. Cancer Rısk Factors And Preventıon In Turkey. Int J Heal Serv Res Policy, 2018;3(3):143–50.
3. Hsiao YH, Chou MC, Fowler C, Mason JT, Man Yg. Breast cancer heterogeneity: Mechanisms, Proofs, and İmplications. J Cancer. 2010;(1):6–13.
4. Nongonierma AB, FitzGerald RJ. Bioactive properties of milk proteins in humans: A review. Peptides. 2015;(73):20–34.
5. Duarte DC, Nicolau A, Teaxeira and Rodrigues LR, The effect of bovine milk laktoferrin on human breast cancer cell lines. J Dairy Sci. 2011;(94):66-76
6. Kaur K, Kumar V, Sharma Ak, Gupta Gk. Isoxazoline containing natural products as anticancer agents: A review. Eur J Med Chem 2014;(77):121–33.
7. Sah BNP, Vasiljevic T, Mckechnie S, Donkor On. Identification of Anticancer Peptides from Bovine Milk Proteins and Their Potential Roles in Management of Cancer. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2015;14(2):123–138.
8. Cutone A, Ianiro G, Musci G, Rosa L, Lepanto M, Valenti P, vd. Lactoferrin's Anti-Cancer Properties: Safety, Selectivity, and Wide Range of Action. Biomolecules. 2020;10(3):171-179.
9. Khazir J, Riley DL, Pilcher LA, De-Maayer P, Mir BA. Anticancer Agents from Diverse Natural Sources. Nat Prod Commun. 2014;9(11):1655–69.
10. Neve RM, Chin K, Fridlyand J, Yeh J, Baehner FL, Fevr T, vd. A Collection of Breast Cancer Cell Lines for The Study of Functionally Distinct Cancer Subtypes. Human Cancer Model İnitivatvr. 2006;10(6):515–527.
11. Giard DJ, Aaronson SA, Todaro GJ, Arnstein P, Kersey JH, Dosik H, vd. In Vitro Cultivation of Human Tumors: Establishment of Cell Lines Derived From a Series of Solid Tumors. J Natl Cancer Inst. 1973;51(5):1417–1423.
12. Knudson AG. Antioncogenes and Human Cancer. Proc Natl Acad Sci. 1993;90(23):10914–10921.
13. Werbrouck J, De Ruyck K, Duprez F, Van Eijkeren M, Rietzschel E, Bekaert S, Single-nucleotide Polymorphisms in DNA Double-strand Break Repair Genes:

Association with Head and Neck Cancer and İnteraction with Tobacco Use and Alcohol Consumption. Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen. 2008;656(1–2):74–81.

14. Eroğlu E, Öksüz C. Eşek Sütü ve Bazı Bileşenlerinin in Vitro Ortamda Antikanser/Yara İyileştirme Aktivitesinin İncelenmesi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bil Enst Derg. 2020;22(2):649–659.
15. Rani A, Stebbing J, Giamas G, Murphy J. Endocrine Resistance in Hormone Receptor Positive Breast Cancer–From Mechanism to Therapy. Front Endocrinol (Lausanne). 2007;35(4):495–516.
16. Schneider R. 1995-2000 Yılları Arasında İstanbul'da Saptanan Köpek Tümörleri. İstanbul Üniv. Veteriner Fak. Derg. 2003;29(1):83-91.
17. Barbaros B, Dİkmen M. Kanser İmmünoterapisi Key Words : Erciyes Üniversitesi Fen Bilim Enst Derg. 2015;31(4):177–181.
18. Hall M, Peters G. Genetic Alterations of Cyclins, Cyclin-Dependent Kinases, and Cdk İnhibitors in Human Cancer. Adv Cancer Res. 1996;(68):67–108.
19. Gündüz E, Gündüz M. p53 Tümör Baskılayıcı Genin 72 . Kodon Polimorfizminin Başboyun Kanserlerindeki Prognostik Rolü. Yeni Tıp Derg. 2009;96–101.
20. Altunok V, Yılmaz E. Kanser ve P53 Geni. Avkae Derg. 2011;(81);19–23.
21. Erman Y, Özçelik A.Ö. Erkek ve Kadınların Diyet-Kanser İlişkisi Hakkında Bilgi ve İnanışları. Angewandte Chemie International Edition, 2017, P:1–160.
22. Avell S. Melatoninin Mcf - 7 Hücre Kültüründeki Sitotoksisitesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR), Mtt Hücre Canlılık Testi ve İmmunsitokimya Yöntemleriyle Araştırılması. Atatürk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2013, Erzurum (Danışman: Prof.Dr. Elvan ÖZBEK).
23. Dobson J. Skin Tumours of the Dog and Cat By M. H. Goldschmidt and F. S. Shofer. J Small Anim Pract. 1994;35(6):325–335
24. Carney DN. Molecular Biology of Cancer. C. Irish Journal of Medical Sci. 1990;(35):159-171.
25. Elmore S. Apoptosis of Programmed Cell Death. Toxicol Pathol 2007;35(4):495-516.
26. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF Receptor Superfamilies: İntegrating Mammalian Biology. 2001;104(4):487–501.

27. Abbas A, Lichtman A, Pober J. Antigen processing and presentation to T lymphocytes. Cell Moll Immunal.1994; 521-534.
28. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer.1972;26(4):239–257.
29. Kerr JFR. History of The Events Leading to The Formulation of The Apoptosis Concept. 2002;181–182:471–484.
30. Nemes Z, Friis RR, Aeschlimann D, Saurer S, Paulsson M, Fésüs L. Expression and Activation of Tissue Transglutaminase in Apoptotic Cells of İnvoluting Rodent Mammary Tissue. 1996;70(2):125–133.
31. Igney FH, Krammer PH. Death and Anti-Death: Tumour Resistance to Apoptosis. National Library of Medicine. 2002;2(4):277–288.
32. Bratton DL, Fadok VA, Richter DA, Kailey JM, Guthrie LA, Henson PM. Appearance of Phosphatidylserine on Apoptotic Cells Requires Calcium-Mediated Nonspecific Flip-Flop and is Enhanced by Loss of The Aminophospholipid Translocase. J Biol Chem. 1997;272(42):26159–26165.
33. Behzadi P, Ranjbar R. Caspases and Apoptosis. Mol Enzymol Drug Targets Derg. 2015;01(02):217-267.
34. Hu Y, Benedict MA, Wu D, Inohara N, Nunez G. Bcl-XL İnteracts with Apaf-1 and İnhibits Apaf-1-Dependent Caspase-9 Activation. 1998;95(8):4386–91.
35. Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, vd. Caspase-12 Mediates Endoplasmic-Reticulum-Specific Apoptosis and Cytotoxicity by Amyloid-beta. National Library of Medicine. 2000;403(6765):98–103.
36. Halk K, Kahveci Z, Çavuşoğlu İ, Sırmalı Ş. Resveratrol ve Dialil Disülfitin Sıçan Testisinde Kadmiyum ile Oluşturulmuş Akut Hasara Etkisi. SDÜ Tıp Fakültesi Derg. 2021; 23-31.
37. Çakır S. Review of Risk Factors in Women Diagnosed with Breast Cancer in The Light of Current Data. Istanbul Bilim Univ Florence Nightingale J Med. 2016;2(3):186–194.
38. Kosova F, Arı Z. Adipositokinler ve meme kanseri. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 2008; (822): 377-384.
39. Nieves-Neira W, Pommier Y. Apoptotic Response to Camptothecin and 7-Hydroxystaurosporine (UCN-01) in The Human Breast Cancer Cell lines of the

NCI Anticancer Drug Screen: multifactorial relationships with topoisomerase I, protein kinase C, Bcl-2, p53, MDM-2 and caspase pathways. 1999;82(3):396–404.

40. Comsa S, Cimpean MA, Raica M. Mcf7 Cells. Anticancer Res. 2015;(35):3147–3154.
41. Freiburghaus C, Welinder C, Tjörnstad U, Lindmark-Månsson H, Paulsson M, and Oredsson S. Identification of ubiquitin in bovine milk and its growth inhibitory effects on human cancer cell lines. J Dairy Sci. 2010; (93):3442–3452.
42. Sharma A, Shandilya K, Sodhi M, Mohanty K, Jain P and Mukesh M. Evaluation of Milk Colostrum Derived Lactoferrin of Sahiwal (*Bos indicus*) and Karan Fries (Cross-Bred) Cows for Its Anti-Cancerous Potential. International Journal of Molecular Sciences. 2019;(20): 6318-6330.
43. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global Cancer Statistics. CA Cancer J Clin. 2005;55(2):74–108.
42. Alberg AJ, Ford JG, Samet JM. Epidemiology of Lung Cancer. Journal of Medical Sci. 2007;132(3):29-55.
44. Toyooka S, Maruyama R, Toyooka KO, McLerran D, Feng Z, Fukuyama Y, vd. Smoke Exposure, Histologic Type and Geography-Related Differences in The Methylation Profiles of Non-Small Cell Lung Cancer. 2003;103(2):153–160.
45. Lieber M, Smith B, Szakal A, Nelson-Rees W, Todaro G. A Continuous Tumor-Cell Line from A Human Lung Carcinoma with Properties of Type II Alveolar Epithelial Cells. Journal of Medical Sci. 1976;17(1):62–70.
46. Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K. Somatic Mutations Affect Key Pathways in Lung Adenocarcinoma. Journal of Medical Sci. 2008;(7216):1069–1075.
47. Jensen RG. The Composition of Bovine Milk Lipids. Journal of Medical Sci. 2002;85(2):295–350.
48. Akça Ç. Eşek Sütünün Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin Kanserli ve Sağlıklı İnsan Akciğer Hücre Hatları Üzerine Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması. U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2015, Bursa (Danışman: Prof. Dr. Tolga CAVAŞ).
49. Wszołek M, Filipczak-Fiutak M, Domagała J. Composıtıon and Propertıes of

Donkey's Mılk. Journal of Medical Sci. 2014;1(92):3-21
50. Hernandez-Ledesma B, Ramos M, Gomez-Ruiz JA. Bioactive Components of Ovine and Caprine Cheese Whey. Journal of Medical Sci. 2011;(101):196–204.
51. Ontsouka CE, Bruckmaier RM, Blum JW. Fractionized Milk Composition During Removal of Colostrum and Mature Milk. Journal of Medical Sci. 2003;86(6):2005–2011.
52. Korhonen H, Lae AP-L, Ki Pr, Tupasela and T. Impact of Processing on Bioactive Proteins and Peptides. Journal of Medical Sci. 1998;307–319.
53. Clare Da, Swaisgood He. Bioactive Milk Peptides: A prospectus. Journal of Medical Sci. 2000;83(6):1187–1195.
54. Korhonen H, Pihlanto-Leppala A, Tupasela T. Impact of processing on bioactive proteins and peptides. Trends in Food Science & Technology. 1998(9):307–319.
55. Grisaffi D. Whey Proteinin Vücuda Faydaları. Ezine Artic. 2011; 31-43
56. Meltretter J, Seeber S, Humeny A, Becker C-M, Pischetsrieder M. Site-Specific Formation of Maillard, Oxidation, and Condensation Products from Whey Proteins during Reaction with Lactose. Journal of Medical Sci 2007;55(15):6096–6103.
57. Lindmark-Månsson H, Akesson B. Antioxidative factors in milk. Journal of Medical Sci. 2000;(84): 103-110.
58. Flynn A. Minerals and Trace Elements in Milk. Journal of Medical Sci. 1992;(17):209–252.
59. Özturan K, Atasever M. Süt ve Ürünlerinde Mineral Maddeler ve Ağır Metaller. Atatürk Üniversitesi Vet Bilim Derg. 2018;13(2):229–241.
60. Shahraki S, Shiri F, Heidari M.M, Dahmardeh S. Anti-cancer study and whey protein complexation of new lanthanum(III) complex with the aim of achieving bioactive anticancer metal-based drugs. Journal of Medical Sci. 2019;(37):2072–2085
61. Freiburghaus C, Welinder C, Tjörnstad U, Lindmark-Månsson H, Paulsson M, and Oredsson S. Identification of ubiquitin in bovine milk and its growth inhibitory effects on human cancer cell lines. American Dairy Science Association. 2010; (93):3442–3452
62. Uniacke-lowe T, Huppertz T, Fox Pf. Equine Milk Proteins: Chemistry, Structure

and Nutritional Significance. 2010;20(9):609–629.

63. Guo HY, Pang K, Zhang XY, Zhao L, Chen SW, Dong ML. Composition, Physiochemical Properties, Nitrogen Fraction Distribution, and Amino Acid Profile of Donkey Milk. Journal of Medical Sci. 2007;90(4):1635–1643.
64. Malacarne M, Martuzzi F, Summer A, Mariani P. Protein and Fat Composition of Mare's Milk: Some Nutritional Remarks with Reference to Human and Cow's Milk. Journal of Medical Sci. 2002;12(11):869–877.
65. Shamsia SM. Nutritional and Therapeutic Properties of Camel and Human Milks. Journal of Medical Sci. 2009;1(2):52–68.
67. Tidona F, Criscione A, Guastella AM, Zuccaro A, Bordonaro S, Marletta D. Bioactive Peptides in Dairy Products. Journal of Medical Sci. 2009;8(3):315–340.
68. Larson BL, Kendall KA. Protein Production in The Bovine. Daily Production of the Specific Milk Proteins during the Lactation Period. 1957;40(4):377–386.
69. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune Components of Bovine Colostrum and Milk. 2009;87(13):3–9.
70. Pakkanen R, Aalto J. Growth Factors and Antimicrobial Factors of Bovine Colostrum. Int Dairy J. 1997;7(5):285–297.
71. Uruakpa Fo, Ismond Mah, Akobundu Ent. Colostrum and its Benefits: A review. Nutr Res. 2002;22(6):755–767.
72. Kelly GS. Bovine Colostrums: A Review of Clinical Uses. Journal of Medical Sci. 2003;8(4):378–394.
73. Martin AM.A Dictionary of Food and Nutrition. Journal of Medical Sci. 2009;13-28.
74. Kehoe SI, Jayarao BM, Heinrichs AJ. A Survey of Bovine Colostrum Composition and Colostrum Management Practices on Pennsylvania Dairy farms. Journal of Medical Sci. 2007;90(9):4108–4116.
75. Rossi P, Giansanti F, Boffi A, Ajello M, Valenti P, Chiancone E. Ca^{2+} Binding to Bovine Lactoferrin Enhances Protein Stability and İnfluences The Release of Bacterial Lipopolysaccharide. Biochem Cell Biol. 2002;80(1):41–58.
76. Tomita M, Wakabayashi H, Yamauchi K, Teraguchi S, Hayasawa H. Bovine Lactoferrin and Lactoferricin Derived From Milk: Production and Applications. Journal of Medical Sci. 2002;80(1):109–112.

77. Silva Egdso, Rangel Ahdn, Mürmam L, Bezerra Mf. Bovine Colostrum: Benefits of its Use in Human Food. Journal of Medical Sci. 2019;(39):355–362.
78. Kleinsmith Ba. Bovıne Colostrum As A Resource For The Powerful Antıoxıdant Glutathıone. Journal of Medical Sci. 2009;13-25.
79. Przybylska J, Albera E, Kankofer M. Antioxidants in Bovine Colostrum. Reprod Domest Anim. 2007;42(4):402–419.
80. Foley JA, Otterby DE. Availability, Storage, Treatment, Composition, and Feeding Value of Surplus Colostrum: A Review. Journal of Medical Sci 1978;61(8):1033–1060.
81. German JB, Dillard CJ, Ward RE. Bioactive Components in Milk. National Library of Medicine. 2002;5(6):653–688.
82. Mechor GD, Gröhn YT, Mcdowell LR, Van Saun RJ. Specific Gravity of Bovine Colostrum Immunoglobulins as Affected by Temperature and Colostrum Components. J Dairy Sci. 1992;75(11):3131–3145.
83. Salmon H. The Mammary Gland and Neonate Mucosal İmmunity. Vet Immunol Immunopathol. 1999;72(1–2):143–155.
84. Logan Ef, Pearson Gr. The Distribution of İmmunoglobulins in The İntestine of The Neonatal Calf. J Dairy Sci. 1978;9(2):319–326.
85. Fecteau G, Smith BP, George LW. Septicemia and Meningitis in the Newborn Calf. J Dairy Sci. 2009;25(1):195–208.
86. Butler JE. Bovine Immunoglobulins. J Dairy Sci. 1969;52(12):1895–909.
87. Bergmann-Leitner ES, Mease RM, Duncan EH, Khan F, Waitumbi J, Angov E. Evaluation of İmmunoglobulin Purification Methods and Their İmpact on Quality and Yield of Antigen-Specific Antibodies. J Dairy Sci. 2008;7(1):129-138.
88. Godden S. Colostrum Management for Dairy Calves. J Dairy Sci. 2008;24(1):19–39.
89. Puppel K, Golebiewski M, Slosarz J, Grodkowski G, Solarczyk P, Kostusiak P. Interaction Between The Level of İmmunoglobulins and Number of Somatic Cells as a Factor Shaping The İmmunomodulating Properties of Colostrum. J Dairy Sci. 2021;11(1):1–9.
90. Larson BL, Heary HL, Devery JE. Immunoglobulin Production and Transport by the Mammary Gland. J Dairy Sci. 1980;63(4):665–671.

91. Klaus Gg, Bennett A, Jones Ew. A Quantitative Study of The Transfer of Colostral İmmunoglobulins to The Newborn Calf. J Dairy Sci. 196;16(3):293–299.
92. Lönnerdal B. Nutritional and Physiologic Significance of Human Milk Proteins. J Dairy Sci. 2003;77(6):1537-1543.
93. Wakabayashi H, Yamauchi K, Takase M. Lactoferrin Research, Technology and Applications. J Dairy Sci. 2006;16(11):1241–1251.
94. Zimecki M, Kruzel ML. Milk-derived Proteins and Peptides of Potential Therapeutic and Nutritive Value. J Dairy Sci. 2007;6(2):89–106.
95. Hagiwara T, Shinoda I, Fukuwatari Y, Shimamura S. Effects of Lactoferrin and its Peptides on Proliferation of Rat İntestinal Epithelial Cell Line, IEC-18, İn The Presence of Epidermal Growth Factor. Journal of Medical Sci. 1995;59(10):1875–1881.
96. King JC, Cummings Ge, Guo N, Trivedi L, Readmond Bx, Keane V. A Double-Blind, Placebo-Controlled, Pilot Study of Bovine Lactoferrin Supplementation in Bottle-Fed İnfants. Journal of Medical Sci. 2007;44(2):245–251.
97. Farnaud S, Evans RW. Lactoferrin Multifunctional Protein with Antimicrobial Properties. Journal of Medical Sci. 2003;40(7):395–405.
98. Pan Y. Rowney M, Hobman P. Biological Properties of Lactoferrin : an overview. Aust J Dairy Technol. 2008;337-391
99. Priyadarshini S, Kansal VK. Lysozyme Activity in Buffalo Milk: Effect of Lactation Period, Parity, Mastitis, Season in India,pH and Milk Processing Heat Treatment. Journal of Medical Sci. 2002;15(6):895–909.
100. Revenis ME, Kaliner MA. Lactoferrin and Lysozyme Deficiency in Airway Secretions: Association with The Development of Bronchopulmonary Dysplasia. Journal of Medical Sci. 1992;121(2):262–270.
101. Kussendrager KD, Van Hooijdonk AC. Lactoperoxidase: Physico-Chemical Properties, Occurrence, Mechanism of Action and Applications. Journal of Medical Sci. 2000;(1):19-25.
102. Seifu E, Buys EM, Donkin EF. Significance of The Lactoperoxidase System in The Dairy İndustry and its Potential Applications: A Review. Journal of Medical Sci. 2005;16(4):137–154.
103. Boots J-W, Floris R. Lactoperoxidase: From Catalytic Mechanism to Practical

Applications. Journal of Medical Sci. 2006;16(11):1272–1286.
104. Arthington JD. Colostrum Management in Newborn Calves. 2008;(35):2–4.
105. Göncü S. Siyah Alaca İnek ve Düvelerde Kolostrum Kalitesi ve Buzağıların Bağışıklık Düzeyleri. Journal of Medical Sci. 2014;28(1):31–48.
106. Morin DE, Constable PD, Maunsell FP, Mccoy GC. Factors Associated with Colostral Specific Gravity in Dairy Cows. Journal of Medical Sci. 2001;84(4):937–943.
107. Logan EF, Penhale WJ. Studies On The İmmunity of The Calf to Colibacillosis. The Local Protective Activity of Colostrum within The Gastro-İntestinal Tract. Journal of Medical Sci. 1971;89(24):628–632.
108. Ontsouka C.E, Bruckmaier R.M, Bruckmaier J.W. Fraksiyonlarına Ayrılmış Süt ve Kolostrumun Bileşenleri. J. Dairy Sci. 2003;(86)2005–2011.
109. Gradinaru AC, Petrescu-Mag IV, Oroian FC, Balint C, Oltean I. Milk protein polymorphism characterization: A modern tool for sustainable conservation of endangered Romanian cattle breeds in the context of traditional breeding. Sustain. Journal of Medical Sci. 2018;10(2):137-151.
110. Idamokoro EM, Muchenje V, Masika PJ. Yield and Milk Composition at Different Stages of Lactation from a Small Herd of Nguni, Boer, and Non-Descript Goats Raised in an Extensive Production System. 2017;9(6):18-33.
111. Marchis Z, Odagiu A, Coroian A, Oroian I, Mirza M, Burduhos P. Analysis of Environmental Factors' İmpact on Donkeys Colostrum Quality. Journal of Medical Sci. 2018;10(9):1-11.
112. Mina M. Review Article Nutritional and Nutraceutical Quality of Donkey Milk. Journal of Medical Sci. 2017;(21):1–14.
113. Lascelles AK. The İmmune System on The Ruminant Mammary Gland and its Role in The Control of Mastitis. Journal of Medical Sci. 1979;62(1):154–167.

114. Argüello A, Castro N, Batista M, Moreno-Indias I, Morales-delaNuez A, Sanchez-Macias D. Chitotriosidase Activity in Goat Blood and Colostrum. Journal of Medical Sci. 2008;91(5):2067–2070.
115. Castro N, Acosta F, Nino T, Vivas J, Quesada E, Capote J, vd. The Effects of Diet and Age on Serum Complement System Activity in Goat Kids. Journal of Medical

Sci. 2008;119(1–3):102–116.
116. Mayilyan KR, Kang YH, Dodds AW, Sim RB. The Complement System in Innate Immunity. MRC Immunochemistry Unit.2008;(24):219–236.
117. Erdem H, Atasever Ş. Yeni Doğan Buzağılarda Kolostrumun Önemi. Ondokuzmayıs Üniv Zir Fak Derg. 2005(2):79-84.
118. Weyermann J, Lochmann D, Zimmer A. A Practical Note on The Use of Cytotoxicity Assays. Journal of Medical Sci. 2005;288(2):369–376.
119. Ebrahim F.O, Fellah A.M, Eldarhobi S, Elzagheid A. Purification of Lactoferrin from Camel colostrum and Protein Profiles of Camel and Bovine Milk. Alexandra Jornal of Veterinary Sciences, 2019;(60):67-70
120. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistic. J Clin Derg. 2020;70(1):7–30
121. Carper MB, Claudio PP. Clinical Potential of Gene Mutations in Lung Cancer. National Library of Medicine. 2015;4(1):33-45.
122. Sharma A, Shandilya UK, Sodhi M, Sodhi AK, Jain P, Mukesh M. Evaluation of Milk Colostrum Derived Lactoferrin of Sahiwal (Bos indicus) and Karan Fries (Cross-Bred) Cows for Its Anti-Cancerous Potential. International Journal of Molecular Sciences. 2019;(20**):** 6318-6330.
123. Pazarbaşı A, Kasap M. Kanser Genetiği. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana, Uzmanlık Tezi (Danışman Prof.Dr.Mülkiye KASAP)
124. Kittaneh M, Montero AJ, Glück S. Molecular Profiling for Breast Cancer: A Comprehensive Review. 2013;(5):61–70.
125. Rossi A, Caracciolo V, Russo G, Reiss K, Giordano A. Medulloblastoma: from Molecular Pathology to Therapy. National Library of Medicine. 2008;14(4):971-986.
126. Kula J. Medicinal Values of Camel Milk. National Library of Medicine. 2016;2(1):18–25.
127. Koldovsky O. Hormones in milk. National Library of Medicine.1980;26(22): 1833–1846.
128. Blum JW, Hammon H. Colostrum Effects on The Gastrointestinal Tract, and On Nutritional, Endocrine and Metabolic Parameters in Neonatal Calves. Livest Prod Sci. 2000;66(2):151–159.
129. Bruckmaier RM, Blum JW. Oxytocin Release and Milk Removal in Ruminants.

Journal of Medical Sci. 1998;81(4):939–949.

130. Smithers GW. Whey and Whey Proteins from 'Gutter-To-Gold. Journal of Medical Sci. 2008;18(7):695–704.
131. Karag C. Peyniraltı Suyu Proteinlerinin Fonksiyonel Özellikleri ve Sağlık Üzerine Etkileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg. 2004;41(2):197–207.
132. Bounous G, Papenburg R, Kongshavn PA, Gold P, Fleiszer D. Dietary Whey Protein İnhibits The Development of Dimethylhydrazine İnduced Malignancy. Journal of Medical Sci. 1988;11(3):213–227.
133. Fakharany E.M, Abu-serie M, Litus E.A, Permyakov S.E, Uversky V.N, Redwan E.M. The Use of Human, Cow, and Cmel Milk Albumins in Anticancer Comlexes with Oleic Asid. The Protein Journal, 2018;(37):203-215
134. Mao X, Gu J, Sun Y, Xu S, Zhang X, Yang H, Ren F. Anti-proliferative and anti-tumour effect of active components in donkey milk on A549 human lung cancer cells. International Dairy Journal. 2009;(19):703–708
135. Klurfeld DM, Weber MM, Kritchevsky D. Comparison of semi-purified and skim milk protein containing diets on DMBA-induced breast cancer in rats. Kiel Milchwirtschaft Forschun. Journal of Medical Sci.1983;**(**35):421–422.
136. McIntosh GH, Regester GO, Le Leu RK, Royle PJ. Smithers GW Dairy proteins protect against dimethylhydrazineinduced intestinal cancers in rats. Journal of Nutrition. 1995;**(**125)**:**809–816.
137. Park S, W Kim, JY, Lee SJ, Chung MK. A Milk Protein, Casein, as a Proliferation Promoting Factor in Prostate Cancer Cells. The World Journal of Men's Health. 2014;(32):76-82.
138. Akca C, Vatan O, Yilmaz D, Huriyet H, Cinkilic N ve Cavas T. In vitro cytotoxic and genotoxic effects of donkey milk on lung cancer and normal cells lines. Czech Journal of Food Sciences. 2019;(37):29–35.
139. Esener OB, B, Balkan B. M, Armutak, EI, Uvez A, Yildiz G, Hafizoglu, M, Yilmazer N, ve Gurel-Gurevin, E. Donkey milk kefir induces apoptosis and suppresses proliferation of Ehrlich ascites carcinoma by decreasing iNOS in mice, Biotechnic and Histochemistry. 2018;(93):424–431.
140. Hakansson A, Zhivotovsk B, Orrenius S, Sabharwa HC. Svanbory Apoptosis induced by a human milk protein. Proc. Natl. Acad. Sci. 1995;(92):8064-8068.

141. Tomita M, Takase M, Bellamy W, Shimura S. A review: The active peptide of lactoferrin Acta Paediatr. National Library of Medicine, Acta Pediatr Jpn. 1994; (36):585-591.

142. Şahna K.Ö. Keçi Sütünden Elde Edilen Protein Hidrolizatlarının MCF-7 Meme Kanseri Hücreleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksel Lisans Tezi, 2019, İstanbul (Danışman Prof. Dr. Tuğba Tunalı AKBAY).

143. El Miniawya HMF, Ahmed KA, Mansourc SA, Khattab MMS Camel milk inhibits murine hepatic carcinogenesis, initiated by diethylnitrosamine and promoted by phenobarbitone. Pharm Biol Derg. 2017;(55):1513–1520.

144. Habib HM, Ibrahim WH, Schneider-Stock R, Hassan HM. Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities. Food Chem. 2013;(141):148–152.

145. Damıens E, Yazıdı IE, Mazurıer J, Duthılle, Spık G, Boılly-Marer Y. Lactoferrin Inhibits G1 Cyclin-Dependent Kinases During Growth Arrest of Human Breast Carcinoma Cells. Journal of Cellular Biochemistry. 1999;**(**74**)**:486–498.

146. Yu-Tang T, Hsiao-Ling C, Chih-Ching Y, Po-Ying L, Hsin-Chung T,Ming-Fong L and Chuan-Mu C. Bovine lactoferrin inhibits lung cancer growth through suppression of both inflammation and expression of vascular endothelial growth factor. J. Dairy Sci. 2013;(96):2095–2106.

147. Gervais F, Amer V, Batist G, Gold P. The influence of dietary wheyprotein on tissue glutathione and diseases of aging. Clin Invest Med, 1989;(12):343-349.

148. Karagözlü C, Bayerer M. Peyniraltı Suyu Proteinlerinin Fonksiyonel Özellikleri Ve Sağlık Üzerine Etkileri. Ege Üniv. Ziraat Fak. Dergisi, 2004;41(2):197-207.

149. Ibrahim HR, Aoki T. New promises of lysozyme as immune modulator and antimicrobial agent for nutraceuticals. Foods and Food Ingredients Journal of Japan. 2003;(208):361–374.

150. Shariatikia M, Behbahani M, Mohabatkar H. Anticancer activity of cow, sheep, goat, mare, donkey and camel milks and their caseins and whey proteins and in silico

comparison of the caseins. Molecular Biology Research Communications. 2017; 6(2):57-64.

9. EKLER

9.1. Özgeçmiş

Adı	İlhan	**Soyadı**	SABANCILAR
Doğum Yeri		**Doğum Tarihi**	
Uyruğu		**Tel**	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora	Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2022
Tezli Yüksek Lisans	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü	2015
Lisans	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi / Kimya Bölümü	2009
Önlisans	Dicle Üniversitesi Tıbbi Laboratuvar Teknikleri	2014
Lise	Diyarbakır Anadolu ve Teknik Endüstri Meslek Lisesi	1999

İŞ DENEYİMİ

Görevi	**Kurum**	**Süre**
Laborant	D.Ü Tıp Fakültesi Kardiyoloji Laboratuarı	48 Ay
Laborant	D.Ü Tıp Fakültesi Hepatit Laboratuarı	24 Ay
Laborant	D.Ü Tıp Fakültesi Hormon Laboratuarı	60 Ay
Laborant	D.Ü Tıp Fakültesi Acil Laboratuarı	24 Ay
Kimyager	Makine ve Kimya Endüstrisi Kurumu	5 Ay

YABANCI DİL SINAV NOTU

ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	57.5							

9.2. Yayın

International Journal of Scientific and Technological Research
ISSN 2422-8702 (Online), DOI: 10.7176/JSTR/5-10-10
Vol.5, No.10, 2019

Investigation of Association between Hepatitis B Virus Infection and Type 2 Diabetes Mellitus

Ilhan Sabancilar
Institute of Health Sciences, Dept. of Biochemistry, Dicle University
Sur 21280, Diyarbakir, Turkey
E-mail: ilhansabancilar@hotmail.com

Nida Ozcan (Corresponding author)
Faculty of Medicine, Dept.of Microbiology, Dicle University
Sur 21280, Diyarbakir, Turkey
E-mail: nida.ozcan@dicle.edu.tr

Belkis Aydinol
Faculty of Medicine, Dept.of Biochemistry, Dicle University
Sur 21280, Diyarbakir, Turkey
E-mail: b.aydinol@dicle.edu.tr

Tugba Gur
Institude of Health Sciences, Dept.of Biochemistry, Yuzuncu Yil University
Van, Turkey
E-mail: tugbagur80@gmail.com

Omer Satici
Faculty of Medicine, Dept.of Biostatistics, Dicle University
Sur 21280, Diyarbakir, Turkey
E-mail: omrs@dicle.edu.tr

No financial support was provided for this study.

Abstract
It was aimed to evaluate the relationship between diabetes and hepatitis B in patients with type 2 diabetes. This retrospective study was conducted between January 2012 and December 2017 in Dicle University Hospital. A total of 686 patients (344 male, 342 female) diagnosed with Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) (whose with HbA1c>6.5) were included. Alcohol users, patients who underwent dialysis and with frequent blood transfusions (such as thalassemia major or hemophilia) were excluded from the study. Patients were divided into two groups as those with hepatitis B (HBsAg >1) and those without hepatitis B (HBsAg <1). Age, gender and liver function tests of the patients were evaluated retrospectively and compared between the two groups. Pearson correlation coefficient was calculated between the variables. Student's t test was used to compare the two groups. Chi-square test was used for categorical variables.
In the HBsAg positive patient group; the relationship of HbsAg with ALT and AST was significant ($p < 0.05$), also a statistically significant relationship was found between Hba1c elevation with ALT levels and age ($p<0.01$). No statistically significant difference was found between HBsAg and HbA1c in HB patients group. There was no significant difference in AST and ALT levels between two groups.
Conclusion: There was no significant relationship between HB and T2DM in current retrospective study including T2DM patients.

Keywords: Hepatitis B Virus, Type 2 Diabetes Mellitus, Aspartate Aminotransferase, Alanine Aminotransferase

DOI: 10.7176/JSTR/5-10-10

10. ORJİNALLİK RAPORU



Turnitin Originality Report

Processed on: 16-May-2022 22:10 +03
ID: 1837779181
Word Count: 27241
Submitted: 1

İnek, Koyun, Keçi ve Eşek Kolostrumunun A549 ve MCF-7 Farklı Kanser Hücreleri Üzerindeki Antitümöral Etkinliği
By İlhan Sabancılar

Similarity Index	Similarity by Source
9%	Internet Sources: 6% Publications: 4% Student Papers: 4%

2% match (Internet from 06-Mar-2022)
https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/72848/yokAcikBilim_10277614.pdf?isAllowed=y&sequence=-1

1% match (publications)
"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015

1% match (student papers from 28-Apr-2022)
Submitted to MAHSA University on 2022-04-28

1% match (publications)
EKİNCİ, Neslihan and SAKALDAŞ, Mustafa. "Hasat Sonrası Yapılan Kalsiyum Klorür ve Kalsiyum Oksit Uygulamalarının Pink Lady Elma Çeşidinin Muhafaza Kalitesi Üzerine Etkileri", ÇOMÜ Ziraat Fakültesi, 2016.

1% match (student papers from 24-Nov-2016)
Submitted to Queen Mary and Westfield College on 2016-11-24

1% match (Internet from 11-May-2022)
https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1476264

1% match (Internet from 29-Nov-2018)
https://studylibtr.com/doc/1754047/tez-soooooooooooon---adnan-menderes-%C3%BCniversitesi---milas

1% match (publications)
İZCİ, Levent, BİLGİN, Şengül, GÜNLÜ, Ali, ÇETİNKAYA, Soner, DİLER, Abdullah, GENÇ, İsmail Yüksel and BOLAT, Yıldız. "Hamsi Balığı (Engraulis encrasicolus) Dönerinin Soğuk Depolama Sırasındaki Kalite Değişimleri", Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 2016.

1% match (student papers from 16-Aug-2018)
Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University on 2018-08-16

İÇİNDEKİLER BEYAN.....
Error! Bookmark not defined. TEŞEKKÜR
..... Error! Bookmark not defined.
İÇİNDEKİLER
.....I
KISALTMALAR ve SİMGELER
..... V ŞEKİLLER DİZİNİ
.....VI
RESİMLER DİZİNİ
..... X
TABLOLAR DİZİNİ
.....XI 1.
ÖZET.....