T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

FERULİK ASİTİN MEME KANSER HÜCRELERİNDE APOPİTOTİK HÜCRE ÖLÜMÜNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Sena ÖZKUL

Danışman

Prof. Dr. Zuhal HAMURCU

Yüksek Lisans Tezi

Şubat 2024

KAYSERİ

T.C.

ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
GEVHER NESİBE GENOM VE KÖK HÜCRE ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

FERULİK ASİTİN MEME KANSER HÜCRELERİNDE APOPİTOTİK HÜCRE ÖLÜMÜNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Hazırlayan

Sena ÖZKUL

Danışman

Prof. Dr. Zuhal HAMURCU

Şubat 2024

KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı : Sena ÖZKUL

İmza :

YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI

"**Ferulik Asitin meme kanser hücrelerinde apopitotik hücre ölümüne etkisinin araştırılması**" adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi'ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan	**Danışman**
Sena ÖZKUL	**Prof. Dr. Zuhal HAMURCU**

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Zuhal HAMURCU

Prof. Dr. Zuhal HAMURCU danışmanlığında **Sena ÖZKUL** tarafından hazırlanan "**Ferulik Asitin meme kanser hücrelerinde apopitotik hücre ölümüne etkisinin araştırılması**" adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Enstitüsü **Moleküler Biyoloji ve Genetik** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

/2024

JÜRİ **İmza**

Danışman : Prof. Dr. Zuhal HAMURCU

Üye : Prof. Dr. Elif Funda ŞENER

Üye : Doç. Dr. Fatma Dilara BALI

ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ……...… tarih ve ……. sayılı kararı ile onaylanmıştır.

……. /……../ ……

Prof. Dr. Yusuf ÖZKUL

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yön veren, tezimin her aşamasında önerilerini ve yardımlarını esirgemeyerek danışmanlığımı yapan, akademik görüşlerimin temellerini oluşturan sevgili hocam, Prof. Dr. Zuhal HAMURCU'ya,

Ekip arkadaşlarıma ve yardımları ile destekleyen, ekip arkadaşım, Ahsen GÜLER'e,

İyi ve kötü günlerimde her zaman yanımda olan, mutluluğu ve üzüntüyü birlikte paylaştığım çok sevgili dostlarıma,

Çalışmamı yürüttüğüm Erciyes Üniversitesi Genom ve Kök Hücre Enstitüsü'ndeki değerli hocalarıma ve çalışanlara,

Hayatımın her alanında ve her anında beni destekleyen, bana inanıp güvenen ve verdikleri emeklerle beni bugünlere hazırlayan aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

Sena ÖZKUL

FERULİK ASİTİN MEME KANSER HÜCRELERİNDE APOPİTOTİK HÜCRE ÖLÜMÜNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Sena ÖZKUL

Erciyes Üniversitesi, Genom ve Kök Hücre Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi, Şubat 2024

Danışman: Prof. Dr. Zuhal HAMURCU

ÖZET

Meme kanseri de dünya kadınları arasında en sık rastlanan kanserlerdendir. Kanser araştırmalarındaki çarpıcı ilerlemelere rağmen, meme kanseri önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmekte ve meme kanseri tedavisine yönelik çalışmalarda devam etmektedir.

Ferula foetida'dan izole edilen ferulik asidin (FA) meme kanserindeki etkileri ve mekanizması tam olarak açıklanmamıştır. Doksorubisin (DOX), metastatik olan meme kanser hastalarının tedavisinde de yaygın olarak kullanılan kemoterapötik bir ajandır. Tümör hücrelerinde DOX'a karşı direncin gelişmesi tedaviyi zorlaştırmaktadır. Dolayısıyla, yeni araştırmalara ve tedavilere ihtiyaç vardır.

Sunulan tez çalışmamızda meme kanserlerinin tedavisinde kullanılan, DOX'un FA ile kombinasyonunun apoptoza karşı kazanılmış dirençte etkisinin araştırılması amaçlandı. Bu amaç için meme kanser hücreleri (agresif meme kanser hücresi olan MDA-MB-231) hem FA hem de DOX ile muamale edildi. Hücre proliferasyonunun analizi için MTS, klon oluşumunu test etmek için klonojenik tespit ve apoptozu tespit etmek için Anneksin-V analizi kullanıldı.

Analiz sonuçlarımıza göre, 48 saat FA (500 μM) ve DOX (5μM)'nin kombin uygulandığı hücrelerde; hücre proliferasyonun ve koloni olşumunun tek başına FA ve DOX uygulanan hücrelere göre önemli oranda azaldığı azaldığı apoptoz oranınIn arttığı bulundu.

Sonuçlarımız, meme kanser hücrelerinde FA ve DOX kombinasyonunun düşük konsantrasyonda DOX'un etkinliğini artırdığını gösterdi. Bu nedenle de DOX'un yüksek konsatrasyonlardaki toksik etkisini azaltmak için düşük konsantrasyonlarda DOX ile FA kombinasyonun yeni ve etkili bir tedavi stratejisi olarak kullanılabileceğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri; Ferulik Asit; Doksorubisin; MDA-MB-231; Apoptoz; klon oluşumu

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF FERULIC ACID ON APOPTOTIC CELL DEATH IN BREAST CANCER CELLS

Sena ÖZKUL

Erciyes University, Institute of Genome and Stem Cell

Department of Molecular Biology and Genetics

Master Thesis, February 2024

Supervisor: Prof. Zuhal HAMURCU

ABSTRACT

Breast cancer is one of the most common cancers among women worldwide. Despite dramatic advances in cancer research, breast cancer remains a major health problem and efforts to treat breast cancer are ongoing. The effects and mechanism of ferulic acid (FA) isolated from Ferula foetida in breast cancer have not been fully elucidated. Doxorubicin (DOX) is a chemotherapeutic agent widely used in the treatment of metastatic breast cancer patients. The development of resistance to DOX in tumor cells makes treatment difficult. Therefore, new research and treatments are needed.

In the present thesis, we aimed to investigate the effect of the combination of DOX with FA, which is used in the treatment of breast cancer, on acquired resistance to apoptosis. For this purpose, breast cancer cells (aggressive breast cancer cells MDA-MB-231) were treated with both FA and DOX. MTS was used to analyze cell proliferation, clonogenic detection to test clone formation and Annexin-V assay to detect apoptosis.

According to our analysis results, in cells treated with FA (500 μM) and DOX (5μM) in combination for 48 hours, cell proliferation and colony formation decreased significantly compared to cells treated with FA and DOX alone, and apoptosis rate increased.

Our results showed that the combination of FA and DOX enhanced the efficacy of DOX at low concentrations in breast cancer cells. Therefore, it showed that the combination of DOX and FA at low concentrations can be used as a new and effective therapeutic strategy to reduce the toxic effect of DOX at high concentrations.

Keywords; Breast Cancer; Ferulic Acid; Doxorubicin; MDA-MB-231; Apoptosis; Clone formation

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK .....
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK i
YÖNERGEYE UYGUNLUK SAYFASI ii
KABUL VE ONAY SAYFASI iii
TEŞEKKÜR iv
ÖZET v
ABSTRACT vi
İÇİNDEKİLER vii
KISALTMALAR ve SİMGELER ix
ŞEKİLLER LİSTESİ x
1.GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1.KANSER 4
2.2.MEME KANSERİ 5
2.3. RİSK FAKTÖRLERİ 6
2.4. MEME KANSERİ MOLEKÜLER SINIFLANDIRILMASI 8
2.5. MEME KANSERİ TANI VE TEDAVİ YÖNTEMLERİ 9
2.5.1. Hormonal Tedavi 10
2.5.2. Kemoterapi 10
2.5.3. Radyoterapi 11
2.5.4. Cerrahi Tedavi 11
2.6. MEME KANSER HÜCRE HATLARI 11
2.6.1. MDA-MB-231 Hücre Hattı 11
2.7. APOPTOZ 12
2.7.1. Ekstrinsik (hücre ölüm sinyalleri ile) Yol: 13
2.7.2. İntristik (mitokondriyal) Yol: 13
2.8. Apoptoz Ve Kanser 15
2.9. FERULİK ASİT 17
2.10. DOKSORUBİSİN 18
3. GEREÇ VE YÖNTEM 20
3.1. GEREÇLER 20

3.1.1.Kullanılan Cihazlar 20
3.1.2.Kullanılan Sarf Malzemeler 20
3.2.YÖNTEM 20
3.2.1. Hücre Kültürü 20
3.2.1.1. Besiyeri Hazırlama 21
3.2.1.2. Hücre Kültürü 21
3.2.1.3. Hücre Pasajlama 21
3.2.1.4. Hücre Sayımı 22
3.3.1. Ferulik asit hazırlanması 22
3.3.2. Doksorubisin hazırlanması 22
3.4. MTS Canlılık Analizi 23
3.2.5. Koloni Analizi 23
3.2.6. Apoptoz Analizi 24
3.2.7.İstatistiksel Analiz 24
4.BULGULAR 25
4.1 FA, DOX ve kombinasyonun MDA-MB-231 kanseri hücrelerinin canlılığına/çoğalmasına etkisi 25
4.2. DOX, FA ve kombinasyonun MDA-MB-231 hücrelerinin koloni oluşumuna etkisi 27
4.3. DOX, Ferulik Asit ve kombinasyonun MDA-MB-231 hücrelerinde apoptoza etkisi 30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 31
KAYNAKLAR 35
EKLER
ÖZGEÇMİŞ

KISALTMALAR ve SİMGELER

BC:	Meme kanseri
BRCA1:	Meme kanseri duyarlılık geni 1
BRCA2:	Meme kanseri duyarlılık geni 2
CDK:	Siklin bağımlı kinaz
DOX	Doksorubisin
ER:	Östrojen reseptörü
FA	Ferulik asit
HER2:	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü
MKC:	Meme koruyucu cerrahi
PR :	Progesteron reseptörü
TNBC:	Üçlü reseptör negatif meme kanseri

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Kanserin Özellikleri 5

Şekil 2. Meme Dokusu 6

Şekil 3. Meme kanseri risk faktörleri 7

Şekil 4. Meme kanseri risk faktörlerinin şematik gösterimi 8

Şekil 5. Meme kanserinin sınıflandırılması 9

Şekil 6. Apopitotik ve nekrotik hücre ölümünün karşılaştırılması 12

Şekil 7. Apoptozun içsel yolağı 15

Şekil 8. Apoptoz mekanizmasında oluşan bozulmalar ve kanser oluşumu 17

Şekil 9. Ferulik asit moleküler yapısı (Ferulic acid | C10H10O4 | CID 445858 - PubChem) 18

Şekil 10. 1-10 µM konsantrasyonlarda 48 saat DOX uygulanan MDA-MB-231 hücrelerinde hücre canlılık oranı. 25

Şekil 11. 5-500 µM konsantrasyonlarda 48 saat FA uygulanan MDA-MB-231 hücrelerinde hücre canlılık oranı. 26

Şekil 12. MDA-MB-231 hücrelerinde 1-5 µM DOX, 500 µM FA ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyonun hücre canlılığına oranı. 27

Şekil 14. MDA-MB-231 hücresinin 10-50 nM artan konsantrasyonlarda DOX, 50-500 µM artan konsantrasyonlarda FA ve kombinasyon uygulaması sonucu koloni sayısı. 29

Şekil 15. MDA-MB-231 hücrelerinin 5 µM DOX, 500 µM FA ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyonları ile muamelesi sonucu total apoptoz oranı. 30

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri dünya kadınları arasında en sık rastlanan kanserlerdendir ve kansere bağlı ölümlerin birçoğunun başlıca sebebidir. Meme kanserinin yüksek mortalite oranını açıklayan çeşitli açıklamalar vardır ve hayati organlara metastaz başlıca neden olarak tanımlanmaktadır. Son birkaç yılda, yoğun çabalar meme kanserinin çeşitli organlara farklı metastatik önceliği olan metastatik heterojenite sergilediğini ve meme kanseri hastalarında prognoz ve tedaviye yanıtlarda farklılıklara yol açtığını göstermiştir (Ylang ve ark., 2019).

Mevcut kanser tedavileri, genellikle sağlıklı hücreleri öldüren ve hastalarda bir dizi yan etkiye neden olan cerrahi müdahale, radyasyon ve kemoterapi ilaçlarını içerir. Tıbbın sürekli gelişmesiyle birlikte, kanser tedavisinde indüksiyon kemoterapisi ve hedefe yönelik tedavi gibi yeni terapiler uygulanmaya başlanmıştır. Geleneksel kemo ve radyo terapi ile karşılaştırıldığında, bu yeni tedavilerle hastaların hayatta kalma süresi önemli ölçüde uzatılmıştır, ancak yan etkiler ve yaşam kalitesi temelde iyileştirilmemiştir (Zhang ve ark., 2019). Bu nedenle, güvenli ve etkili antitümör tedavilerin sürekli araştırılması, çağdaş onkolojinin ana araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Doğal bitki bileşenleri kanserin önlenmesi ve tedavisinde önemli bir rol oynamakta, kanser hastalarının klinik semptomlarını, yaşam kalitesini ve prognozunu iyileştirmede önemli bir etkinliğe sahip olmakta ve giderek kanserin önlenmesi ve tedavisinde önemli bir araç haline gelmektedir (Li ve ark., 2023).

Bitki hücre duvarlarında yaygın olarak bulunan fenolik bir madde olan ferulik asit (FA) (Babbar ve ark., 2021), birçok geleneksel Çin ilacının önemli bir aktif bileşenidir. Kararlı fiziksel ve kimyasal özelliklere, olağanüstü farmakolojik aktiviteye ve insan vücudu üzerinde çok az toksik ve yan etkiye sahiptir.

Farmakolojik aktiviteleri temel olarak antioksidan, anti-enflamatuar, anti-diyabetik, kan basıncını düşürücü , hepatoprotektif ve immünoregülatör aktiviteleri içerir. FA üzerine farmakolojik araştırmaların derinleşmesiyle, önemli antitümör biyolojik aktivite göstermiştir ve malign tümörlerin tedavisi için potansiyel bir ilaç olması beklenmektedir. Bu makalede, geleneksel antitümör ilaçların zayıf etkinlik, yüksek toksisite ve ilaç direnci gibi mevcut sorunlarını çözmek için yeni fikirler sağlamak amacıyla FA'nın antitümör mekanizması ile ilgili ilerlemeler gözden geçirilmiştir (Kilani ve ark., 2015)

Tümör hücreleri sınırsız büyüyebilir ve genlerin neden olduğu programlı ölüme direnebilir. Tümörlerin bu kötü huylu davranışı sadece tedavinin zorluğunu artırmakla kalmaz, aynı zamanda kansere bağlı ölümlerin de önemli bir nedenidir. Apoptoz, programlanmış hücre ölümünün en önemli şeklidir (Morana ve ark., 2022). FA apoptozun indüklenmesinde önemli bir etkiye sahiptir.

Hücre proliferasyonu, hücre büyümesi ve farklılaşmasının önemli bir parçasıdır ve aktif proliferasyon ve metabolizma tümör hücrelerinin özellikleridir. Normal hücrelerin aksine, kanser hücreleri sonsuz büyüme, dönüşüm ve metastaz özelliklerine sahiptir ve bu nedenle zorlukla ortadan kaldırılır (Liu ve ark., 2019). Bu nedenle, tümör hücrelerinin çoğalmasını engellemek tümör tedavisinde önemli bir yöntemdir. İn vitro ve in vivo çalışmalar, FA'nın kolorektal kanser, akciğer kanseri ve meme kanseri hücrelerinin çoğalmasını çeşitli şekillerde etkili bir şekilde inhibe edebildiğini göstermiştir.

Doksorobisin (DOX), metastatik olan meme kanser hastalarının tedavisinde de yaygın olarak kullanılan kemoterapötik bir ajandır (Sharmin ve ark., 2021), (Yang ve ark., 2014). Ancak klinikte yaygın kullanılmasına rağmen, toksik olup normal dokulara da zarar verir, bu nedenle tedavi sırasında ve sonrasında hastaların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkiler (Thomas ve ark., 2021; Ghazaleh ve ark., 2021). Ayrıca, tümör hücrelerinde DOX'a karşı direncin gelişmesi tedaviyi zorlaştırmaktadır. Sitotoksisitesinden dolayı DOX'un direncin üstesinden gelmek için DOX dozunu artırmanın imkânsız olduğu vurgulanmıştır (Tan ve ark., 2020). Dolayısıyla, metastatik meme kanser hastalarının tedavisinde kullanılmasına rağmen, ilaç direnci ve kardiyotoksisiteye neden olduğu için doksorubisin kullanımında

zorlanılmaktadır. Bu nedenle, doksorubisinin anti-kanser etkili dozunu ve yan etkilerini ve ayrıca direncini azaltmak için yeni stratejilere ve araştırmalara ihtiyaç vardır.

Bu bilgilerden hareketle önerilen tez projesinde meme kanserlerinin tedavisinde kullanılan DOX ile FA kombinasyonunun apoptoza karşı kazanılmış dirençte etkisinin araştırılması amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KANSER

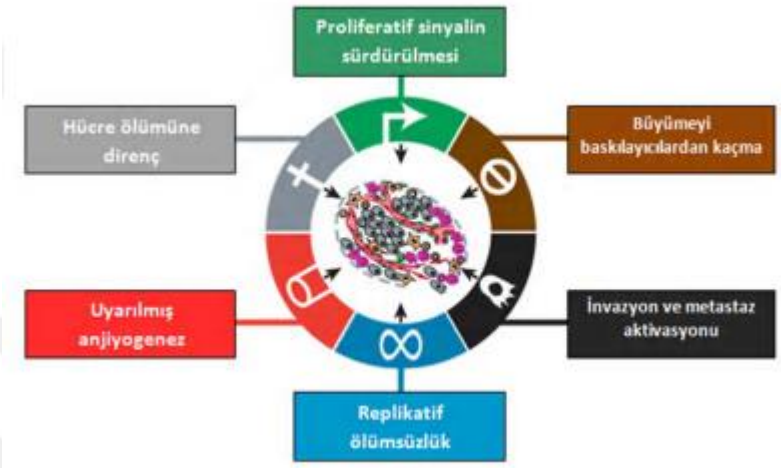
Kanser, vücuttaki bazı hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyüyerek vücudun diğer bölgelerine yayıldığı bir hastalıktır. Kanser, trilyonlarca hücreden oluşan insan vücudunun hemen her yerinde başlayabilir. Normalde insan hücreleri, vücudun ihtiyaç duyduğu yeni hücreleri oluşturmak için büyür ve çoğalır (hücre bölünmesi adı verilen bir süreçle). Hücreler yaşlandığında veya hasar gördüğünde ölür ve yerlerini yeni hücreler alır. Bazen bu düzenli süreç bozulur ve anormal veya hasarlı hücreler büyümemeleri ve çoğalmamaları gerekirken büyür ve çoğalırlar. Bu hücreler doku topakları olan tümörleri oluşturabilir. Tümörler kanserli veya kanserli olmayan (iyi huylu) olabilir.

Kanserli tümörler yakındaki dokulara yayılır veya onları istila eder ve yeni tümörler oluşturmak için vücudun uzak yerlerine gidebilir (metastaz adı verilen bir süreç). Kanserli tümörler kötü huylu tümörler olarak da adlandırılabilir. Birçok kanser katı tümörler oluşturur, ancak lösemiler gibi kan kanserleri genellikle oluşturmaz.

Kanser kelime olarak “canker’’ ve ‘’carcinos’’ kelimelerinden türetilmiştir ve Latincede yengeç manasına gelmektedir. MÖ 3. yüzyılda ilk defa Hipokrat tarafından tanımlanmıştır (Hanahan ve ark., 2011).

Kanser, dünya çapında ikinci ölüm nedenidir ve sadece kardiyovasküler hastalıklar tarafından geçilmektedir. Kontrolsüz hücre çoğalması ve hematolojik kanserler dışında anormal bir hücre kitlesi veya tümör oluşturan hücre ölümünün olmaması ile karakterizedir. Bu birincil tümör yeni damarlanma sayesinde büyür ve zamanla metastatik potansiyel kazanarak vücudun diğer bölgelerine yayılır, bu da metastaza ve nihayetinde ölüme neden olur. Kanser, çevresel veya kalıtsal faktörler nedeniyle hücrelerin genetik materyalinde meydana gelen hasar veya mutasyonlardan

kaynaklanır. Lokal ve metastatik olmayan kanserlerde cerrahi ve radyoterapi birincil tedavi yöntemi iken, metastatik kanserlerde anti-kanser ilaçlar (kemoterapi, hormon ve biyolojik tedaviler) tercih edilmektedir (Debela ve ark., 2021)



Şekil 1. Kanserin Özellikleri (Hanahan ve Weinberg, 2011).

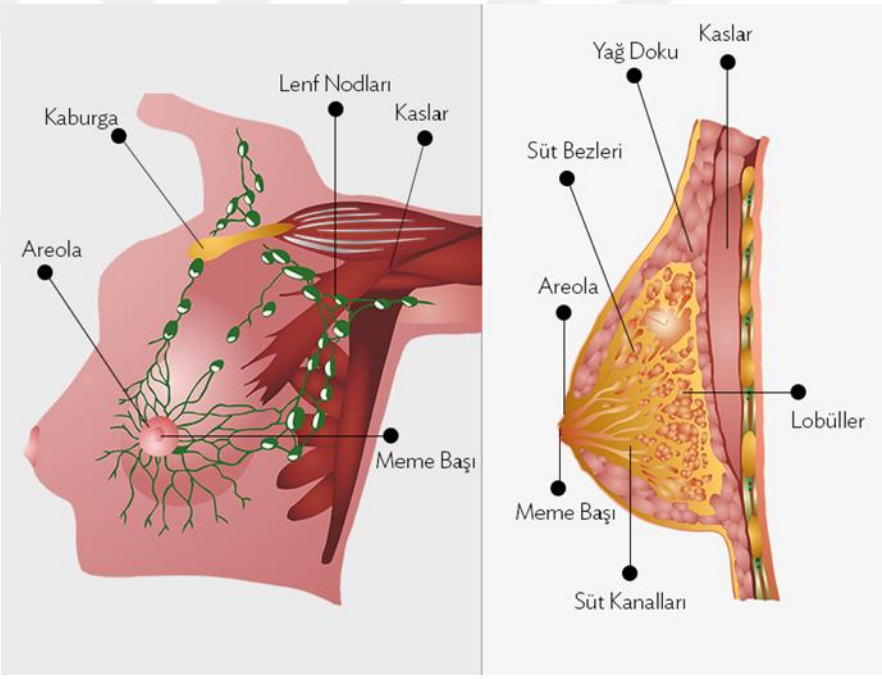
2.2. MEME KANSERİ

Meme kanseri, gelişmekte olan ülkelerdeki kadınlar arasında kanserden ölümlerin önde gelen nedenidir. Meme kanserinin yüksek mortalite oranını açıklayan çeşitli açıklamalar vardır ve hayati organlara metastaz başlıca neden olarak tanımlanmaktadır. Son birkaç yılda, yoğun çabalar meme kanserinin çeşitli organlara farklı metastatik önceliği olan metastatik heterojenite sergilediğini ve meme kanseri hastalarında prognoz ve tedaviye yanıtlarda farklılıklara yol açtığını göstermiştir. Kemik, akciğer, karaciğer ve beyin genellikle meme kanseri metastazının birincil hedef bölgeleri olarak kabul edilmektedir (Zhang ve ark., 2019).

Kadınlarda görülme sıklığı daha yüksektir. Risk faktörleri şöyledir; genetik,yaş cinsiyet,hormonal mekanizmalar,ailenin geçmiş öyküsü vb. birçok faktör vardır.

Meme dokusu, süt üretiminde rol oynayan bezler olan lobüller, lobülleri meme ucuna bağlayan kanallar ve bağ dokusu, yağ dokusu ve lenfatik dokudan oluşur. Meme kanseri, memenin herhangi bir bileşeninde düzensiz bir hücre büyümesi olduğunda ortaya çıkar, ancak bu en yaygın olarak lobüllerde görülür. Önemli ölçüde daha az yaygın olmasına rağmen, meme kanseri erkeklerde de görülebilir. Meme kanseri

zaman içinde gelişir ve in situ bir aşamadan geçebilir (Veronesi ve ark.,2005). İster in situ ister invaziv olsun, rutin kendi kendine meme muayeneleri, mamografik tarama sırasında veya belirti veya semptomlar geliştikten sonra tespit edilebilir. Başlangıçta, memede ele gelen veya görülebilen bir yumru gelişene kadar meme kanseriyle ilişkili herhangi bir belirti veya semptom yoktur. En sık görülen fiziksel belirti ağrısız bir meme yumrusudur. Metastazın erken evrelerinde aksiller bölgede şişmiş ve büyümüş lenf düğümleri mevcut olabilir. Kanlı meme başı akıntısı, ağırlık, kızarıklık, şişlik, meme deformitesi veya retraksiyonlar daha az görülen belirtilerdir, ancak meme malignitesinin önemli bir göstergesidir ve hastalığın ileri evrelerinde daha belirgin olabilir. Erken belirtiler az olduğundan, tüm kadınların erken evrim aşamalarında anormal meme dokusu olanları tespit etmek için mevcut meme kanseri taramalarını düzenli olarak yaptırmaları gerekmektedir (Anastasiadi ve ark., 2017).



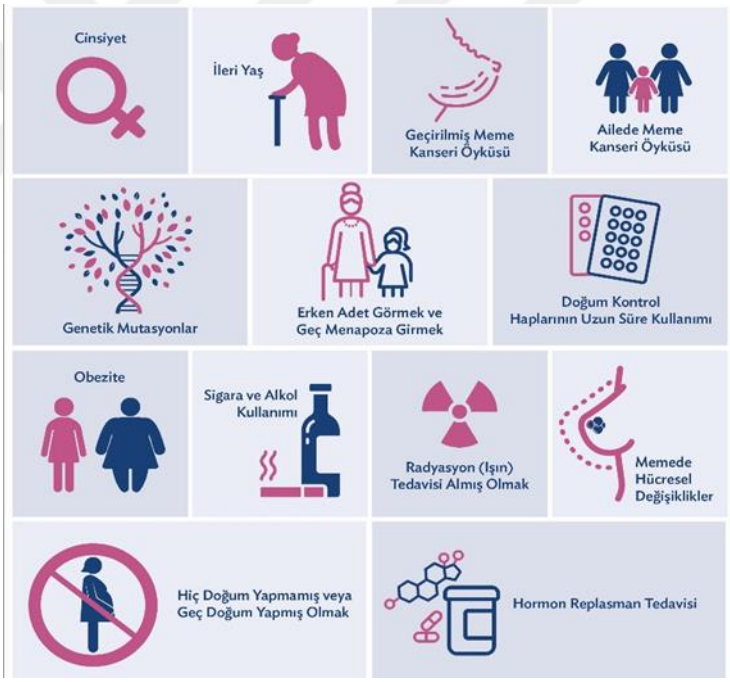
Şekil 2. Meme Dokusu (Türk Tıbbi Onkoloji Dergisi https://www.kanser.org)

2.3. RİSK FAKTÖRLERİ

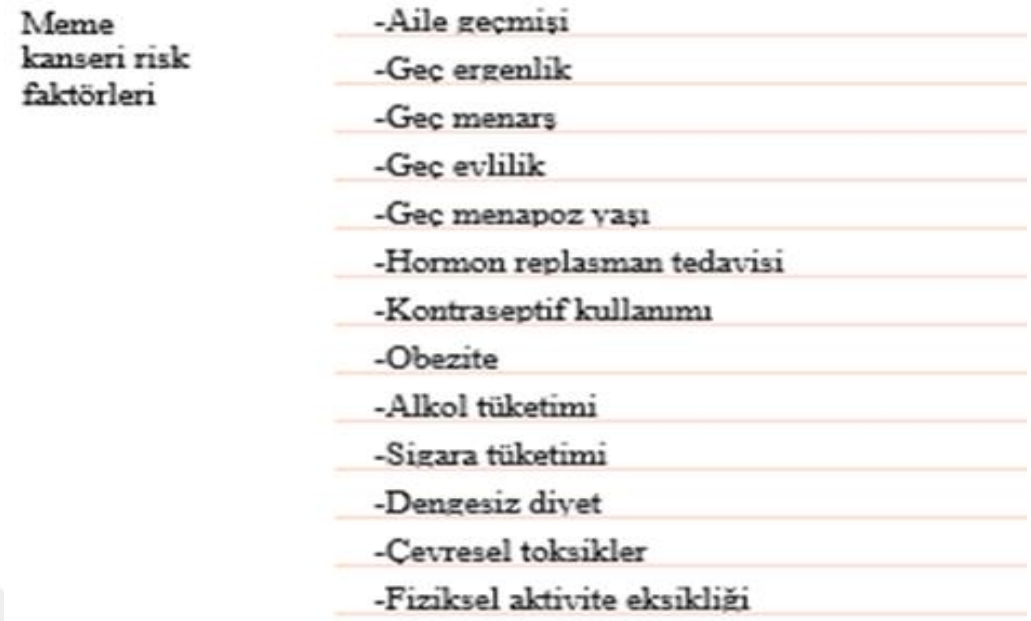
Epidemiyolojik çalışmalar, meme kanseri riskinin gelişimi veya ilerlemesi için farklı faktörleri ilişkilendirmiştir. Geç evlilik yaşı, ilk doğum ve menopoz gibi risk faktörleri hastalık gelişimi ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. 30 yaş ve üzerinde evlenen kadınlarda, daha genç yaşta evlenen kadınlara kıyasla risk %7. iken, evlilik yaşı 30'dan az ancak ilk doğum yaşı 30 veya daha fazla olduğunda ilgili risk %1.4'tür

(Dey ve ark., 2009). Geç evlilik ve doğum yaşı, meme dokusu farklılaşmasının eksikliğine, östrojenik olmayan mutajenlere daha fazla maruz kalmaya ve östrojen tarafından genotoksisiteye yol açmaktadır. Menopozun 50 yaşından sonra gerçekleşmesi kadınları uzun süreli östrojen maruziyetine sokmaktadır (Surakasula ve ark., 2014). Bir meta-analiz çalışması, erken gebelik ve daha uzun emzirme süresinin ER (Östrojen reseptörü) pozitif ve ER negatif meme kanseri riskini azalttığını gözlemlemiştir. Benzer şekilde, dengesiz diyet alımı da meme kanseri riskiyle ilişkili bir diğer faktördür.

Çalışmalar, vejetaryen olmayan ve yüksek hayvansal yağ içeren diyetle beslenen kadınların meme kanseri geliştirme şansının vejetaryen diyetle beslenen kadınlardan daha fazla olduğunu tahmin etmiştir. Ayrıca, yetersiz fiziksel aktivite de meme kanseri riskiyle ilişkilidir (Kim ve ark., 2013).



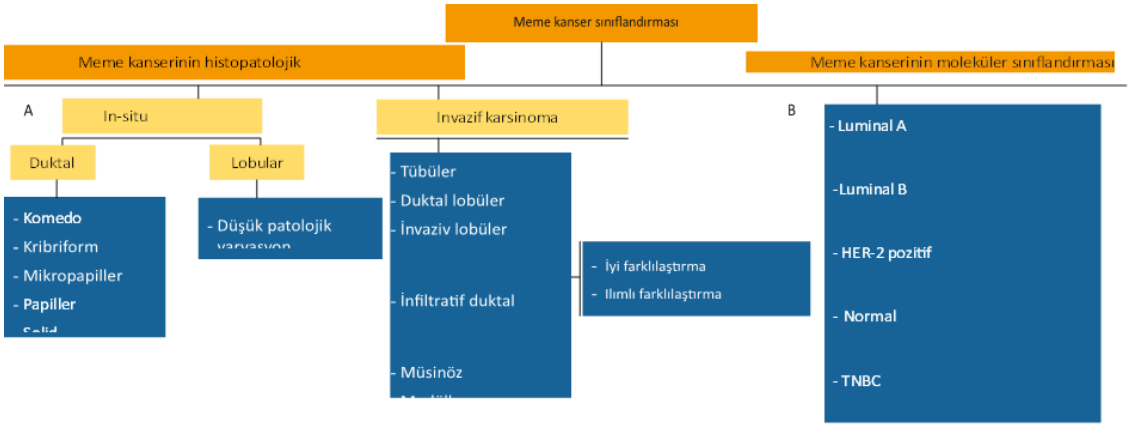
Şekil 3. Meme kanseri risk faktörleri (Türk Tıbbi Onkoloji Dergisi, https://www.kanser.org)



Şekil 4. Meme kanseri risk faktörlerinin şematik gösterimi (Dharambir ve ark., 2022).

2.4. MEME KANSERİ MOLEKÜLER SINIFLANDIRILMASI

Meme kanseri östrojen reseptörleri (ER) ve progesteron reseptörleri (PR) ve İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 pozitif (HER2) onkogeninin ekspresyonuna dayalı olarak farklı alt tiplerde tanımlanmıştır (Şekil 5). Genel olarak, ER pozitif tümörler, ER negatif tümörlerden daha yaygındır. Ayrıca, ER pozitif tümörler, ER negatif tümörlerin aksine daha küçük ve düşük dereceli ve lenf nodu negatiftir. Böylece, iki ER/PR pozitif (Luminal A ve Luminal B) alt grup bulunmaktadır. Luminal B alt grupta PR pozitif veya negatif olabilir. Ayrıca ER negatif HER2 tip meme kanseri, bazal benzeri meme kanseri ve TNBC alt tipleri bulunmaktadır (Tao ve ark., 2015).



Şekil 5. Meme kanserinin sınıflandırılması (Dharambir ve ark., 2022).

ÜÇLÜ NEGATİF MEME KANSERİ (TNBC)

Östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonunun yanı sıra insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) amplifikasyonundan yoksun üçlü negatif meme kanseri (TNBC) hastalarının tedavisi, hastalığın heterojenliği ve iyi tanımlanmış moleküler hedeflerin olmaması nedeniyle zor olmuştur. TNBC'ler tüm meme kanserlerinin %10-%20'sini oluşturur, daha genç hastaları daha sık etkiler ve Afro-Amerikan kadınlarda daha yaygındır. TNBC tümörleri genellikle daha büyük boyuttadır, daha yüksek derecelidir, tanı sırasında lenf nodu tutulumu vardır ve biyolojik olarak daha agresiftir (Li ve ark.,2020). Cerrahi öncesi (neoadjuvan) kemoterapiye daha yüksek klinik yanıt oranlarına sahip olmalarına rağmen, TNBC hastaları diğer meme kanseri alt tiplerine sahip kadınlara göre daha yüksek uzak nüks oranına ve daha kötü prognoza sahiptir (Lehmann ve ark., 2011). Metastatik TNBC'li kadınların %30'undan azı 5 yıl hayatta kalmakta ve tedavinin temel dayanağı olan adjuvan kemoterapiye rağmen neredeyse tamamı hastalıklarından hayatını kaybetmektedir.

2.5. MEME KANSERİ TANI VE TEDAVİ YÖNTEMLERİ

Meme kanseri, kadınlar arasında görülme sıklığı ve kansere bağlı ölümlerin en fazla olduğu kanser türlerindendir. Bu mortalite oranı sebebiyle meme kanserinin tanı ve tedavisi önemlidir. Erken invaziv meme kanserinin teşhisi, biyopsi onayı ile desteklenen radyoloji ve klinik değerlendirmeye dayanmaktadır. Aynı zamanda kitle

elle tutulabilir ve bir ağrı ile teşhis edilebilirken; mamografi, biyopsi, ultrason gibi tekniklerle de tanısı konunabilir.

2.5.1. Hormonal Tedavi

ER- veya PR-pozitif meme kanseri olan hastalar aromataz inhibitörü gibi endokrin tedavisi almalıdır. Artmış osteoporoz riski veya aromataz inhibitörü intoleransı konusunda endişe varsa, tamoksifen reçete edilebilir. Yakın zamana kadar, tüm premenopozal hastalara tamoksifen önerilmekteydi. Ancak, randomize 3 kollu SOFT çalışmasının sonuçları, sadece kemoterapi alan hastalarda ovaryan supresyon artı eksemestanın tamoksifenden daha üstün olduğunu göstermiştir (Elizabeth ve ark.,2016). Kemoterapi, tedavi eden doktorun takdirine bağlı olarak uygulandığından, yumurtalık baskılaması ve eksemestanın yararı, nüks riski en yüksek olan hastalarda (pozitif lenf düğümleri, büyük primer tümörler veya HER2-pozitif hastalık) gözlenmiştir. Kemoterapi almayan premenopozal hastalar için tek başına tamoksifen kabul edilebilir olmaya devam etmektedir. Endokrin tedavi en az 5 yıl önerilir; ancak randomize ATLAS çalışmasının sonuçları, meme kanseri mortalitesinde 10 yıllık tamoksifen yerine %3'lük ek bir iyileşme olduğunu göstermiştir (Fischer ve ark., 2014)

2.5.2. Kemoterapi

Definitif cerrahi sonrası adjuvan kemoterapi genellikle yüksek nüks riski taşıyan hastalığı olan hastalar için önerilir. Aşağıdaki klinikopatolojik özellikler kemoterapi için endikasyon oluşturabilir: ER-, PR- ve HER2-negatif; HER2-pozitif; büyük tümör boyutu; ve pozitif lenf nodları. Lenf nodları ve ER-pozitif tümörler için negatif sonuçları olan hastalar için, uzak nüks riskini daha iyi tahmin etmenin yanı sıra kemoterapiden en fazla fayda sağlayacak hastaları belirlemek için RNA tabanlı genomik test kullanılabilir (Elizabeth ve ark.,2016). Genomik test, kemoterapinin endike olup olmadığını belirlemek için SNLB veya aksiller diseksiyondan sonra sınırlı sayıda pozitif lenf nodu olan hastalar için de düşünülebilir (Fischer ve ark.,2014). Yüksek riskli hastalığı olan hastalar için sitotoksik tedavi hem bir antrasiklin hem de bir taksan içermelidir. Düşük riskli hastalık için antrasiklinler daha yaygın olarak ihmal edilir. Kemoterapi kullanma kararı, hastanın

komorbiditeleri ve komplikasyon riski ile potansiyel sağkalım faydasının dengelenmesine dayanmalıdır**.**

2.5.3. Radyoterapi

Prospektif randomize çalışmalar, meme kanserinden uzun vadeli mortalite ve genel hasta sağkalımının radyasyon tedavisi ve mastektomi için karşılaştırılabilir olduğunu doğrulamıştır. Radyasyon tedavisi ayrıca tedaviden sonraki 10 yıl içinde korunmuş memede çok yüksek lokal kontrol oranları (%90-95) ile ilişkilidir; bu oranlar mastektomi ile elde edilenlerle karşılaştırılabilir ve çoğu kadın iyi veya mükemmel bir kozmetik sonuca sahiptir (McDonald ve ark.,2016). Ayrıca, yukarıda tartışıldığı gibi, endike olduğunda kemoterapi veya endokrin sistemik tedaviler yaygın olarak kullanılmaktadır. Radyasyonun evre 0 meme kanseri (duktal karsinoma in situ) tedavisinde de kanıtlanmış bir rolü vardır; gelişmiş hasta seçimi, cerrahi ve radyasyon teknikleri ile %90-95 oranında uzun vadeli lokal kontrol elde edilmiştir**.**

2.5.4. Cerrahi Tedavi

Kanserde oldukça tercih edilen yöntemdir. Kanserin yapısına, lokasyonuna, metastaz durumuna göre farklı şekillerde yapılabilir. Birinci yöntem bölgesel mastektomi denilen var olan tümörün alındığı cerrahi işlem, ikinci yöntem ise total mastektomi denilen tüm memenin alındığı cerrahi işlemdir.

2.6. MEME KANSER HÜCRE HATLARI

Kanser ve birçok hastalığın mekanizmalarını araştırmak için hücre kültür yöntemi kullanılmaktadır. Hücre hatları kullanımları olarak kolay, çoğalma olarak sınırsız bir çoğalma göstermesiyle oldukça avantajlı kaynaklardır. Laboratuvarlarda kullanılan meme kanser hücre hatlarından bazıları şu şekildedir: MCF7, BT-20, BT-549, MDA-MB-231, MDA-MB-435, MDA-MB-468.

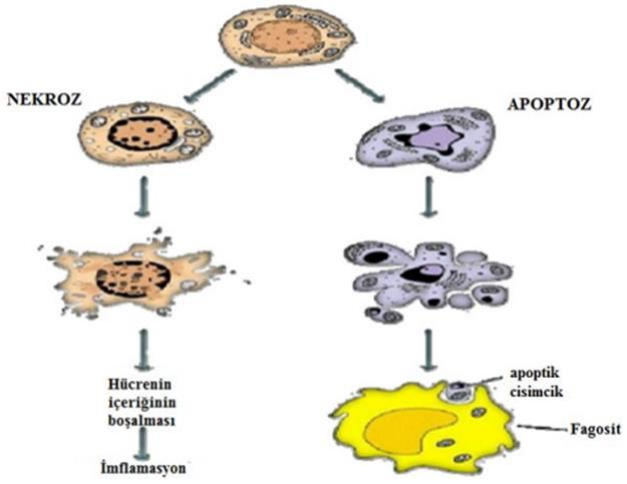
2.6.1. MDA-MB-231 Hücre Hattı

Bu hücre hatları M.D. Anderson Enstitüsü'nde geliştirilmiştir. MDA-MB-231 tam açılımı M.D. Anderson-Metastatic Breast şeklindedir. Kemoterapi duyarlılığı orta seviyededir. (Speirs ve ark., 2011).

2.7. APOPTOZ

Apoptoz ilk defa Kerr, Wyllie, Currie tarafından 1972 yılında bir makalede tanımlanmıştır (Kerr ve ark., 2002). Programlı hücre ölümü olan apoptoz, gen düzeyinde hassas bir şekilde düzenlenerek DNA hasarını takiben ya da gelişim sırasında meydana gelenler gibi hasarlı hücrelerin kontrollü bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlar. Apoptoz karmaşıktır ve birden fazla sinyal yolunu içerir. Apoptoz, hücrelerde kaspaz aracılı ekstrinsik ya da intrinsik yollarla tetiklenebilir.Bu iki yol da efektör apoptotik kaspazları aktive edebilmek amacıy bir araya gelir ve sonuç olarak apoptozun özellikleri olan morfolojik ve biyokimyasal hücresel değişikliklere neden olur. (Elmore, 2007).

Apoptozis normalde gelişim ve yaşlanma sırasında ve dokulardaki hücre popülasyonlarını korumak için homeostatik bir mekanizma olarak meydana gelir. Apoptoz aynı zamanda bağışıklık reaksiyonlarında olduğu gibi bir savunma mekanizması olarak ya da hücreler hastalık veya zararlı ajanlar tarafından zarar gördüğünde ortaya çıkar (Norbury ve ark., 2001). Apoptozu tetikleyebilecek hem fizyolojik hem de patolojik çok çeşitli uyaranlar ve koşullar olmasına rağmen, tüm hücrelerin aynı uyarana yanıt olarak ölmesi gerekmez. Işınlama veya kanser kemoterapisi için kullanılan ilaçlar bazı hücrelerde DNA hasarına yol açar ve bu da p53'e bağlı bir yolla apoptotik ölüme neden olabilir. Kortikosteroidler gibi bazı hormonlar bazı hücrelerde (örneğin timositler) apoptotik ölüme yol açabilir, ancak diğer hücreler etkilenmez veya hatta uyarılır.



Şekil 6. Apopitotik ve nekrotik hücre ölümünün karşılaştırılması (Nature, 2009).

Bazı hücreler, ligand bağlanması ve protein çapraz bağlanması yoluyla apoptoza yol açabilen Fas veya TNF reseptörlerini ifade eder. Diğer hücreler, hormon veya büyüme faktörü gibi bir hayatta kalma faktörü tarafından engellenmesi gereken varsayılan bir ölüm yoluna sahiptir. Apoptozu nekrozdan ayırma meselesi de vardır; bu iki süreç bağımsız, sıralı ve aynı anda gerçekleşebilir (Hirsch ve ark.,1997). Son olarak apoptoz, "kaspaz" adındabir grup sistein proteazın aktivasyonunu ve başlatıcı uyaranları hücrenin nihai ölümüne bağlayan komplike bir olaylar dizisini içeren koordineli ve enerjiye bağlı bir süreçtir (Zeiss ve ark., 2003).

2.7.1. Ekstrinsik (hücre ölüm sinyalleri ile) Yol:

Ekstrinsik ölüm reseptörü yolu, adından da anlaşılacağı gibi, ölüm ligandları bir ölüm reseptörüne bağlandığında başlar. Birçok ölüm reseptörü tanımlanmış olmasına rağmen, en iyi bilinen ölüm reseptörleri tip 1 TNF reseptörü (TNFR1) ve Fas (CD95) adı verilen ilgili bir proteindir ve ligandları sırasıyla TNF ve Fas ligandı (FasL) olarak adlandırılır (Hengartner ve ark., 2000). Bu ölüm reseptörleri, TNF reseptörü ile ilişkili ölüm alanı (TRADD) ve Fas ile ilişkili ölüm alanı (FADD) gibi adaptör proteinleri ve kaspaz 8 gibi sistein proteazları işe alan bir hücre içi ölüm alanına sahiptir. Ölüm ligandının ölüm reseptörüne bağlanması, bir adaptör protein için bir bağlanma bölgesinin oluşmasıyla sonuçlanır ve tüm ligand-reseptör-adaptör protein kompleksi, ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC) olarak bilinir (O'Brien ve ark., 2008). DISC sonra pro-kaspaz 8'in aktivasyonunu başlatır. Enzimin aktive formu olan kaspaz 8, diğer aşağı akış ya da yürütücü kaspazları parçalayarak apoptozu başlatan bir başlatıcı kaspazdır.

2.7.2. İntristik (mitokondriyal) Yol:

İsminden de anlaşılacağı gibi, intrinsik yol hücre içinde başlatılır. Onarılamaz genetik hasar, hipoksi, aşırı yüksek sitozolik Ca2+ konsantrasyonları ve şiddetli oksidatif stres gibi iç uyaranlar, intrinsik mitokondriyal yolun başlatılmasının bazı tetikleyicileridir (Karp ve ark., 2008). Uyaranlardan bağımsız olarak bu yol, mitokondriyal geçirgenliğin artması ve sitokrom-c gibi pro-apoptotik moleküllerin sitoplazmaya salınmasının sonucudur. Bu yol, ismini ilk olarak foliküler non-Hodgkin lenfomada kromozom 18'den 14'e translokasyonun kromozomal kırılma noktasında gözlenen BCL2 geninden alan Bcl-2 ailesine ait bir grup protein

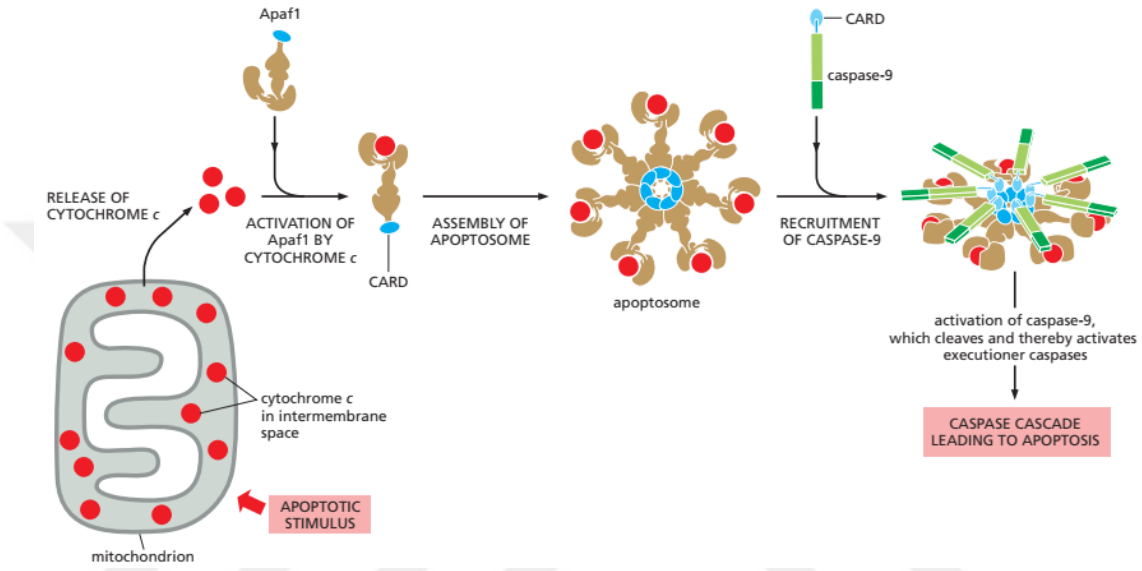
tarafından yakından düzenlenir (Finger ve ark.,1984). Bcl-2 proteinlerinin pro-apoptotik proteinler (örneğin Bax, Bak, Bad, Bcl-Xs, Bid, Bik, Bim ve Hrk) ve anti-apoptotik proteinler (örneğin Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1 ve Mcl-1) olmak üzere iki ana grubu vardır. Anti-apoptotik proteinler sitokrom-c'nin mitokondriyal salınımını engelleyerek apoptozu düzenlerken, pro-apoptotik proteinler bu salınımı teşvik ederek hareket eder. Apoptozun başlatılıp başlatılmayacağını belirleyen mutlak miktar değil, pro- ve anti-apoptotik proteinler arasındaki dengedir (Reed ve ark.,1997). Mitokondriyal zarlar arası boşluktan sitoplazmaya salınan diğer apoptotik faktörler arasında apoptozu indükleyen faktör (AIF), ikinci mitokondri kaynaklı kaspaz aktivatörü (Smac), Düşük pI'lı doğrudan IAP Bağlayıcı protein (DIABLO) ve Omi/yüksek sıcaklık gereksinimi protein A (HtrA2) yer almaktadır [28]. Sitokrom c'nin sitoplazmik salınımı, sitokrom c, Apaf-1 ve kaspaz 9'dan oluşan apoptozom olarak bilinen bir kompleksin oluşumu yoluyla kaspaz 3'ü aktive eder. Öte yandan, Smac/DIABLO veya Omi/HtrA2, apoptoz proteinlerinin inhibitörüne (IAP'ler) bağlanarak kaspaz aktivasyonunu teşvik eder ve bu da IAP'lerin kaspaz-3 veya -9 ile etkileşiminde bozulmaya yol açar (Kroemer ve ark., 2007).

2.7.3. Yürütme Yolu (Kaspazlar)

Ekstrinsik ve intrinsik yolların her ikisi de apoptozun son yolu olarak kabul edilen yürütme fazı noktasında sona erer. Apoptozun bu aşamasını başlatan yürütme kaspazlarının aktivasyonudur. Apoptozun yürütme yolu bir dizi kaspazın aktivasyonunu içerir. İntrinsik yol için yukarı akış kaspazı kaspaz 9 iken ekstrinsik yol için kaspaz 8'dir. İntrinsik ve ekstrinsik yollar kaspaz 3'e yakınsar. Kaspaz 3 daha sonra nükleer apoptozdan sorumlu olan kaspaz ile aktive olan deoksiribonükleaz inhibitörünü parçalar. Ek olarak, aşağı akış kaspazları protein kinazların, hücre iskeleti proteinlerinin, DNA onarım proteinlerinin ve endonükleaz ailesinin inhibitör alt birimlerinin bölünmesini indükler. Ayrıca hücre iskeleti, hücre döngüsü ve sinyal yolları üzerinde de etkileri vardır ve bunlar birlikte apoptozdaki tipik morfolojik değişikliklere katkıda bulunurlar (Witzig ve ark., 2005).

Kaspaz-3, bu kaspazların en önemlisi olarak kabul edilir ve başlatıcı kaspazlardan (kaspaz-8, kaspaz-9 veya kaspaz-10) herhangi biri tarafından aktive edilir. Kaspaz-3 spesifik olarak endonükleaz CAD'yi aktive eder. Çoğalan hücrelerde CAD,

inhibitörü ICAD ile kompleks oluşturur. Apoptotik hücrelerde, aktive kaspaz-3, CAD'yi serbest bırakmak için ICAD'yi parçalar (Sakahira ve ark., 1998). CAD daha sonra çekirdek içindeki kromozomal DNA'yı parçalar ve kromatin yoğunlaşmasına neden olur. Kaspaz-3 ayrıca hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine ve hücrenin apoptotik cisimlere parçalanmasına neden olur.



Şekil 7. Apoptozun içsel yolağı (Alberts, 2010).

2.8. Apoptoz Ve Kanser

Hücre ölümü düzenlemesindeki anormallikler kanser, otoimmün lenfoproliferatif sendrom, AIDS, iskemi ve Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı ve Amyotrofik Lateral Skleroz gibi nörodejeneratif hastalıklar gibi hastalıkların önemli bir bileşeni olabilir. Bazı hastalıklarda yetersiz apoptozis, bazılarında ise aşırı apoptozis söz konusudur.

Kanser, hücre döngüsü düzenlemesinin normal mekanizmalarının işlevsiz olduğu, hücrelerin aşırı çoğaldığı ve/veya hücrelerin azaldığı bir örnektir (King ve ark.,1998). Tümör hücrelerinin apoptozu baskılamak için kullandığı çeşitli moleküler mekanizmalar vardır.

Tümör hücreleri, Bcl-2 gibi anti-apoptotik proteinlerin ekspresyonu veya Bax gibi pro-apoptotik proteinlerin aşağı regülasyonu veya mutasyonu yoluyla apoptoza karşı direnç kazanabilir. Hem Bcl-2 hem de Bax'ın ifadesi p53 tümör baskılayıcı gen

tarafından düzenlenir (Miyashita, 1994). İnsan B hücre lenfomasının bazı formları Bcl-2'nin aşırı ekspresyonuna sahiptir ve bu, hücre ölümünün başarısızlığının kansere katkıda bulunduğuna dair ilk ve en güçlü kanıtlardan biridir (Vaux ve ark., 1988). Kanserde apoptozun baskılanmasının bir diğer yöntemi de immün gözetimden kaçınmayı içerir (Smyth ve ark., 2001).

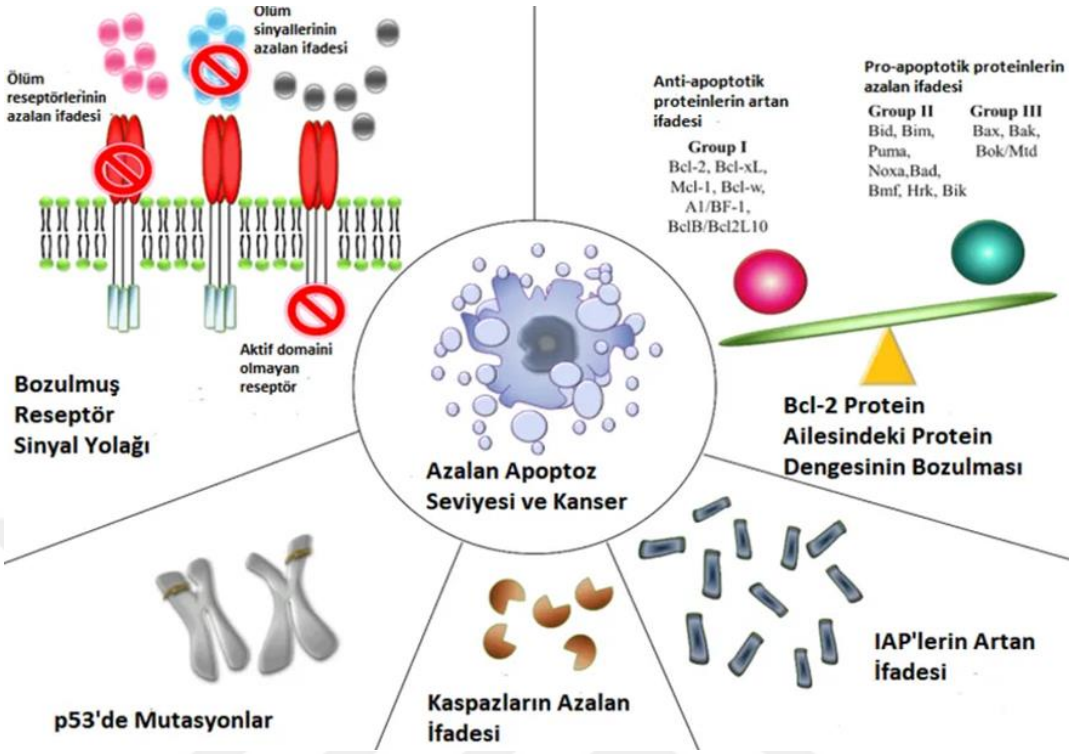
Bazı bağışıklık hücreleri (T hücreleri ve doğal öldürücü hücreler) normalde tümör hücrelerini perforin/granzim B yolu veya ölüm reseptörü yolu ile yok eder. İmmün yıkımdan kaçınmak için, bazı tümör hücreleri T hücreleri tarafından üretilen FasL'ye karşı ölüm reseptörü yolunun yanıtını azaltacaktır. Bunun, tümör hücrelerindeki Fas reseptörünün aşağı regülasyonu da dahil olmak üzere çeşitli yollarla gerçekleştiği gösterilmiştir. Diğer mekanizmalar arasında işlevsiz Fas reseptörünün ekspresyonu, Fas ligandını tutacak Fas reseptörünün çözünür formunun yüksek seviyelerde salgılanması veya Fas ligandının tümör hücrelerinin yüzeyinde ekspresyonu yer almaktadır (Cheng ve ark., 1994). Aslında, bazı tümör hücreleri, aktive tümör infiltre eden lenfositlerin apoptotik olarak tükenmesiyle sonuçlanan Fas ligand aracılı bir "karşı saldırı" yeteneğine sahiptir (Koyama ve ark., 2001).

P53'ün kritik rolü, tüm insan kanserlerinin %50'sinden fazlasında mutasyona uğramış olmasından anlaşılmaktadır. p53, DNA hasar gördüğünde DNA onarım proteinlerini aktive edebilir, DNA hasarı tanındığında hücre döngüsünü G1/S düzenleme noktasında tutabilir ve DNA hasarının onarılamaz olduğu kanıtlanırsa apoptozu başlatabilir (Pientenpol ve ark., 2002). Bu sistem ters giderse tümörigenez meydana gelebilir. Eğer p53 geni hasar görürse, tümör baskılanması ciddi şekilde azalır. P53 geni radyasyon, çeşitli kimyasallar ve İnsan papilloma virüsü gibi virüsler tarafından zarar görebilir. Azalmış apoptoz veya apoptoz direncinin, karsinogenezde önemli bir rolü vardır. Malign bir hücrenin apoptozda azalma veya apoptoz direnci kazanmasının birçok yolu vardır. Genel olarak, apoptozdan kaçınmanın gerçekleştiği mekanizmalar geniş bir şekilde ayrılabilir:

1. pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin bozulan dengesi,

2. azalan kaspaz fonksiyonu

3. bozulan ölüm reseptörü sinyali



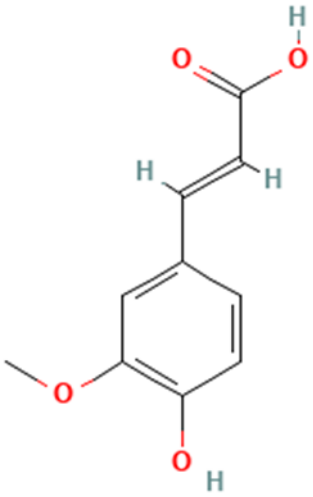
Şekil 8. Apoptoz mekanizmasında oluşan bozulmalar ve kanser oluşumu (Wong ve ark., 2014).

2.9. FERULİK ASİT

Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit, FA) çeşitli meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan fenolik bir asit bileşiğidir. Antioksidan, hepatoprotektif, antidiyabetik, antitrombotik, antimikrobiyal, anti-alerjik, antiviral ve antitümör aktiviteleri dahil olmak üzere geniş spektrumlu farmakolojik özelliklere sahiptir (Kumar ve ark., 2014). 1925 yılında FA kimyasal olarak sentezlenmiş ve spektroskopik teknikle yapısal olarak doğrulanmıştır. FA, doymamış bir yan zincirin varlığını ve hem cis hem de trans izomerik formların varlığını göstermiştir (Nethaji ve ark., 1988). Tahıl kepeği, tam tahıllı gıdalar, turunçgiller, muz, kahve, portakal suyu, patlıcan, bambu filizleri, pancar, lahana, ıspanak ve brokoli gibi birçok yaşamsal gıda maddesi zengin FA kaynaklarıdır. DNA'yı oksidatif hasardan koruyan ve oksidatif stresi baskılayarak lipid peroksidasyonunu önleyen güçlü bir antioksidan maddeye sahiptir.

Ayrıca, Japonya'da katkı maddesi antioksidan ve gıda koruyucusu olarak kullanılmasına izin verilmiştir. FA'nın bir tuzu olan sodyum ferulat da Çin'de

serebrovasküler ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2005). Tümör hücreleri sınırsız büyüyebilir ve programlanmış genlerin neden olduğu ölüm. Tümörlerin bu kötü huylu davranışı sadece tedavinin zorluğunu arttırmakla kalmaz, aynı zamanda kansere bağlı ölümlerin önemli bir nedenidir. Apoptozis programlanmış hücre ölümünün en önemli şeklidir. FA'nın apoptozun indüklenmesinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, FA'nın insan serviks kanseri tümörlerinin büyümesi üzerindeki inhibitör etkisi, miR-34a'yı yukarı doğru düzenleyerek, böylece hedef geni Bcl-2'nin ekspresyonunu inhibe ederek, apoptotik yolu başlatır ve hücre apoptozunu teşvik ederek gerçekleştirir.



Şekil 9. Ferulik asit moleküler yapısı (Ferulic acid | C10H10O4 | CID 445858 - PubChem (nih.gov)).

2.10. DOKSORUBİSİN

Doksorubisin (DOX), meme kanseri tedavisinde kullanılan en yaygın kullanılan kemoterapötiktir. Anatomik evre ve tümör derecesi, risk ve kemosensitivitenin değerlendirilmesinde sıklıkla dikkate alınan bileşenlerdir. Daha yüksek riskli tümörler kemoterapiden daha fazla genel fayda ile ilişkilidir. Bu nedenle, HR+ meme kanseri olan bazı hastaların DOX içeren bir kemoterapi alması nadir değildir. Erken meme kanseri için randomize klinik çalışmalara kaydolan yaklaşık 100.000 kadının meta-analizi, yüksek doz DOX içeren rejimlerin, kemoterapötik müdahale yapılmayan hastalara kıyasla 10 yıllık meme kanseri ölüm oranını üçte bir oranında önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur (Syahputra ve ark., 2023).

Kemoterapötik faydası az olan düşük riskli hastalarda DOX yaygın olarak siklofosfamid ile bir arada uygulanır. Yüksek riskli hastalarda, en büyük risk azaltımını elde etmek için bu rejimi taksan takip edebilir. DOX, lenf nodu tutulumu ve üçlü negatif hastalığı olan hastalar için en önemli gibi görünmektedir. Üçlü-negatif meme kanseri (TNBC), üç moleküler hedefin de bulunmaması, yani hedeflenebilir reseptörlerin olmaması ile karakterize edilir. Metastatik olmayan TNBC'nin tedavisi için Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) onaylı tek seçenek kemoterapötik ajanlardır (Syahputra ve ark.,2023). Bu yapıdaki tümörler genellikle DNA hasar onarım mekanizmalarından yoksundur, bu nedenle DOX gibi nükleer hedefleme özelliklerine sahip ajanlar sıklıkla kullanılır. TNBC tüm meme tümörlerinin yaklaşık %15'ini oluşturur ve yüksek nüks oranına sahiptir; evre I hastalık için %85 olan 5 yıllık meme kanserine özgü sağkalım HR+ ve HER2+ kanserlerde %94 ve %99'dur. Ayrıca, metastatik TNBC için medyan genel sağkalım HR+ ve HER2+ kanserlerdeki yaklaşık 5 yıllık oranla karşılaştırıldığında 10 ila 13 ay arasındadır.

Doksorubisinin neden olduğu kardiyak hasarı azaltmak için TGFβ'yı inhibe etmek kuşkusuz önemlidir. Yapılan başka bir çalışmada, insanlarda TGFβ inhibisyonunun Doksorubisin ile tedavi edilen kardiyak mikrovasküler endotelyal hücre (HCMVEC) hücrenin proliferasyonunda artış göstermektedir. Doksorubisin tarafından oluşturulan oksidatif stres, mitokondri membranında kusurlara neden olarak mATP'yi azaltır, sitokrom c'yi sitozole salar ve apoptozu tetikler. En önemlisi, sitokrom c apoptoz ile iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle, mitokondriden sitokrom c salınımının olası inhibisyonu araştırılmaya değerdir. Genellikle doksorubisinin neden olduğu kardiyak hasarın, apoptozu indükleyen kaspaz-3'ün aktivasyonundan kaynaklandığına inanılmaktadır. Bu aynı zamanda bozulmuş mitokondriden salınan sitokrom c ile de ilişkilidir. Apaf-1 ve kaspaz 9 ile etkileşim yoluyla kaspaz-3 aktivasyonuna aracılık eden mitokondri, daha sonra apoptoza neden olur (Goldenberg ve ark., 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sunulan tez çalışması Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi (GENKÖK) Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.1. GEREÇLER

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Cihaz olarak: Eliza-Reader (Glomax), laminar akım kabini, CO2'li inkübatör, soğutmalı santrifüj, hassas terazi (Mrc), çalkalayıcı, derin dondurucu (-80), buzdolabı (+4) ,invert mikroskop, otoklav, pipet tabancası, mikropipet seti, vorteks, manyetik karıştırıcı kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Sarf Malzemeler

Sarf malzeme olarak: DMEM F12, Fetal Bovine Serum, Penicillin-Streptomycin, L-glutamine, Trypsin-EDTA, 25'lik ve 75'lik Hücre Kültür Flaskı, 6 ve 96 Kuyucuklu Hücre Kültür Plakaları, Dulbecco Fosfat Tamponlu Salin (DPBS), Ferulik Asit, Doksorubisin, MTS, PMS DMSO, 15 ml'lik ve 50 ml'lik Falkon Tüp, Cryo Tüp, 5,10 ve 25 ml'lik Serolojik Pipet, Thoma Lamı, Cristal Violet kullanılmıştır.

3.2.YÖNTEM

3.2.1. Hücre Kültürü

Sunulan tez çalışmasında MDA-MB-231 hücre hattı kullanıldı. Bu hücre hattı yaygın olarak geç evre meme kanserini modellemek için kullanılır (Welsh, 2013). Bu hücre hattı daha önce ATCC (American Type Culture Collection) firmasından ticari olarak satın almış olup çoğaltarak azot tankında muhafaza edildi

3.2.1.1. Besiyeri Hazırlama

Besiyerini hazırlamak için aşamalar şöyledir:

1. 500 ml DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 'in içerisine 50 ml FBS, 5 ml L-Glutamin ve 5 ml Penisilin/Steptomisin eklendi (55 °C'de inaktive edildi).
2. +4°C'de saklandı.
3. Daha sonra MDA-MB-231 hücrelerinin çoğaltılması için kullanıldı.

3.2.1.2. Hücre Kültürü

Deneyler boyunca tüm hücre kültür çalışmaları steril laminar hava akımlı kabinlerde yapılıp hücreler 37°C %5 CO2'li inkübatörde inkübe edildi. Daha önce -196°C sıvı azot tankında dondurularak saklanan hücre hatları medyumla yıkandı. Daha sonra yıkanan hücreler 25 cm2 'lik flasklara ekilerek 37°C %5 CO2'li inkabatörde kültüre edildi.

3.2.1.3. Hücre Pasajlama

Tüm kültür çalışmaları steril laminar hava akımlı kabinde yapıldı. Hücre pasajlama aşamaları şu şekildedir:

1.-196°C azot tankından MDA-MB-231 hücreleri alındı.

2.Su banyosunda 37°C'ye ulaşması sağlanan besiyeri ile hücreler yıkanarak 15 ml'lik 3.falkon tüplere alındı.

4.Falkon tüpler 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

5.Süpernatant kısım atıldıktan sonra içinde hücreleri bulunduran pellet besiyeri ile çözündürüldü.

6.Yoğunluklarına göre 75 cm^2 'lik flasklara ekildi.

7. Hücrelerin çoğalması, mikroskop ile incelendi ve hücre yoğunluğu kültür kabının tabanında %80-90'ına ulaştığında pasajlama işlemi yapıldı

8. 75 cm^2 'lik flasklarda bulunan besiyeri serolojik pipet ile atıldı.

9. Daha sonra flasklara, 3 ml tripsin-EDTA solüsyonu eklendi ve 3 dakika sonra hücrelerin flask tabanından ayrılmaları için 37 °C'lik CO_2'li etüvde bekletildi.

10. Tripsin EDTA solüsyonu üzerine toksisiteyi azaltmak için (tripsin hücre-hücre ve hücre-yüzey alanı arasındaki bağları kırar) 6 ml besiyeri eklendi.

11. Flask tabanı serolojik pipet ile yıkandı ve toplanan süspansiyon 15 ml'lik falkon tüplere alındı, santrifüj edildi.

12. Süpernatant atıldıktan sonra pellet çözdürüldü ve medyum içeren yeni flasklara bölünerek ekildi. Hücreler çoğalmaları için elverişli olan 37 °C'lik CO_2'li etüvde inkübe edildi.

3.2.1.4. Hücre Sayımı

Deneylerde, deneylerin amaçlarına uygun hücre sayılarını bulmak için hücre sayımı gerçekleştirildi ve bu hücre sayımı için thoma lama kullanıldı. Thoma lamı sayesinde sayımda 0,1 mm3 hacimde 1 ml'deki hücre sayısı belirlendi. Thoma lamına her iki tarafa hücre süspansiyonu içerisinden 10µl kondu. Mikroskop yardımıyla lamın belirli olan bölgelerinde hücre sayımı yapıldı. Hücre sayısını ortalaması alınarak '1 ml'deki total hücre miktarı=sayılan bölgelerin ortalaması*10^4 hesaplandı.

3.3.1. Ferulik asit hazırlanması

Ferulik asit, Sigma-Aldrich (PHR1791-100MG) firmasından ticari olarak satın alındı. Toz halinde firmadan gelen ferulik asitten %100 EtOH 'de vorteks ile çözülerek stok solüsyonu hazırlandı.Daha sonraki deneylerde kullanmak için istenilen konsantrasyonlar için FBS (-) ile seyreltme işlemi yapıldı. Her kullanım için yeni stok solüsyonu hazırlandı.

3.3.2. Doksorubisin hazırlanması

Doksorubisin, Sigma-Aldrich(D1515-10MG) firmasından ticari olarak satın alındı. Toz halinde firmadan gelen DOX %100 EtOH'de vorteks ile çözülerek stok solüsyonu şeklinde hazırlandı. Daha sonraki deneylerde kullanmak için istenilen konsantrasyonlar için FBS (-) ile seyreltme işlemi yapıldı. Hazırlanan stoklar sonra kullanılmak üzere 100 µl olacak şekilde alikuatlandı. Daha sonra -20˚C'de saklandı.

3.4. MTS Canlılık Analizi

Hücre canlılık oranını belirlemek için MTS/PMS analizi kullanıldı. MTS (3-(4, 5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4-sülfofenil)-2H-tetrazolyum) boyası (Promega, Madison, WI), Fenazin metosülfat (PMS) varlığında kültür ortamında çözünen formazan ürününe dönüşür. Böylece sarı olan MTS boyası, mavi-mor renge dönüşür ve 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılabilir.

MTS analizi için MDA-MB-231 hücreleri 96 kuyucuklu plakalara 100 µl içinde 1500 hücre olacak şekilde ekildi. Hücreler 5,10,25,50,100,150,200,400,500 µM tek başına FA, 1,5,8,10 µM tek başına DOX ve 500 µM FA ve 5 µM DOX kombinasyonu (MTS analiz sonuçlarımıza göre hücrelerin yaklaşık %50'sinin öldüğü konsantrasyon) ile 48 saat muamele edildi. Kontrol grubu olarak hiçbir uygulamanın yapılmadığı muamelesiz MDA-MB-231 hücreleri kullanıldı. Hücrelerin 48 saat olan ilaçla inkübasyon süreleri dolduğunda MTS/PMS solüsyonları taze olarak hazırlandı ve her kuyucuğa 20 µl eklenilerek 37 °C'lik CO_2'li etüvde 2-3 saat bekletildi. Daha sonra, Eliza-Reader cihazında 450 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapıldı.

3.2.5. Koloni Analizi

Koloni oluşumu deneyi, kanser hücrelerinin gösterdiği yaygın bir özellik olan koloni oluşturma eğilimlerinin test edilmesi için kullanılan yöntemlerden biridir.

MDA-MB-231 hücrelerinin sayımı yapıldı ve 6 kuyucuklu plakalara 2000 µl içinde 1500 hücre olacak şekilde ekimi yapıldı. Hücreler inkübasyonlarının 48.saatinde FAviçin 50, 100, 200, 500 µM, DOX için 10, 25, 30, 50 nM konsantrasyonlarda ve 30 nM DOX ve 100 µM FA konsantrasyonlarında kombin olarak muamele edildi. Kontrol grubu olarak muamelesiz MDA-MB-231 hücreleri kullanıldı. İnkübasyon devam ederken her gün mikroskop altında hücrelerin çoğalması incelendi ve kontrol olarak kullanılan hücrelerin çoğaldığı plakanın yüzeyini yaklaşık %85-90 oranında kapladığında (yaklaşık 10-15 gün sonra) deney sonlandırıldı. Hücreler metanol içeren %5'lik kristal viyole ile 5 dakika boyandı ve daha sonra distile su ile yıkandı. Kurumaya bırakıldı. Kuyucuklar fotoğraflandı ve her bir kuyucuktaki koloniler sayıldı.

3.2.6. Apoptoz Analizi

Apoptoz analizi için AnnexinV Apoptosis Detection Kiti kullanılarak flow sitometri cihazında analiz yapıldı. Hücreler 96 kuyucuklu plakaya besiyeri içerisinde 1500 hücre olacak şekilde ekildi. Hücreler 5 µM DOX, 500 µM Ferulik asit ile ve aynı konsantrasyonlarda DOX ve Ferulik asit kombinasyonu ile 48 saat muamele edildi. 48 saatlik inkübasyon sonrası hücreler 50 µl Tripsin-EDTA ile 3-4 dakika muamele edildi ve daha sonra hücrelerin üzerine 180 µl medya eklendi ve 400 g'de 5 dakika santrifüj edilerek hücrelerin tabana çökmesi sağlandı. Üst medya uzaklaştırıldıktan sonra 100 µl binding buffer eklendi ve tekrar santrifüj edildi. Süpernatant aspire edildi. Kit içeriğine göre, 20 µl binding buffer, 1 µl Annexin V boyası, 1 µl 7AAD boyaları ile karışım hazırlandı ve her bir örneğe 20 µl karışımdan ilave edildi 15 dakika karanlık ortamda inkübe edildi. Daha sonra Flow sitometri cihazında ölçüm için 200-300 µl binding buffer eklenerek analiz yapıldı.

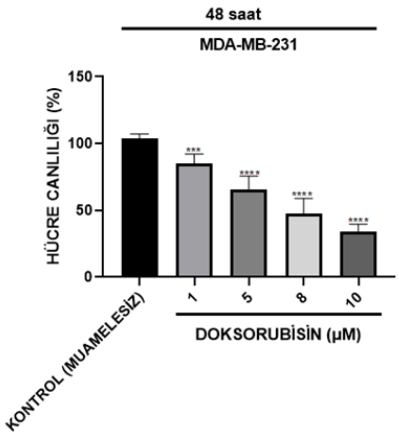
3.2.7. İstatistiksel Analiz

Deneyler sonucunda elde edilen verilerin istatistiksel analizi Graphpad Prism 8.0 programı ile yapıldı. Verilerin analizleri için Student t testi kullanıldı. P değeri 0.05'in altında olan veri sonuçları istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Deneyler 3 tekrarlı çalışıldı.

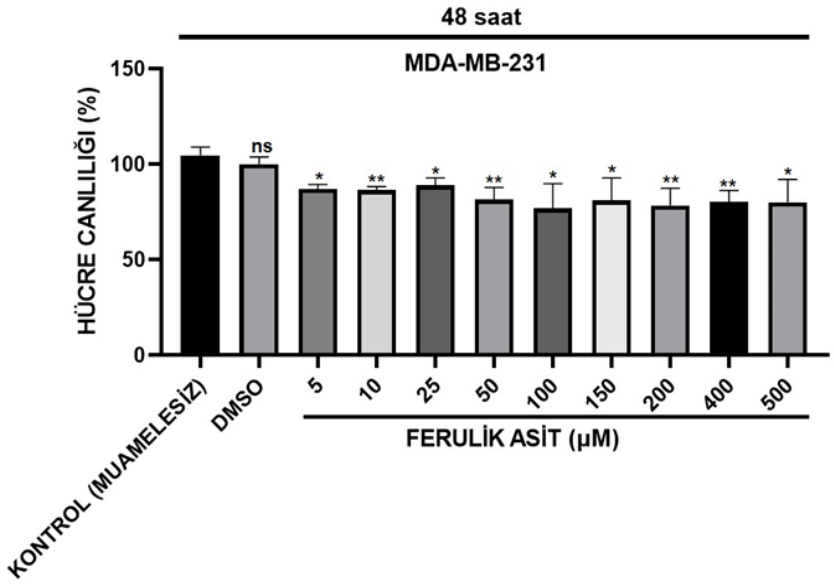
4.BULGULAR

4.1. FA, DOX ve kombinasyonun MDA-MB-231 kanseri hücrelerinin canlılığına/çoğalmasına etkisi

Öncelikle hücrelerin yaklaşık %50'sinin öldüğü doz ve zaman aralığını belirlemek için MDA-MB-231 hücreleri, FA için 5,10,25,50,100,150,200,400,500 µM ve DOX için 1,5,8,10 µM ile 48 saat boyunca muamele edildi. Hücrelerin bir kısmı muamelesiz bırakıldı. Hücrelerin inkübasyon süresi dolduğunda MTS solüsyonu ile boyanan hücrelerin canlılık oranı Elisa cihazında ölçüldü. MTS analizi sonuçlarına göre, MDA-MB-231 hücrelerinde, DOX için 48 saat muamele edilen MDA-MB-231 hücrelerinde kontrol hücrelerine göre, 1-10 µM dozlarda artan doz konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol hücrelerine göre hücre canlılığı/proliferasyonunda azalma bulundu (Şekil 10) FA için 48 saat 5-500 µM dozlarında artan doz konsantrasyonuna bağlı olarak kontrol hücrelerine göre hücre canlılığı/proliferasyonunda önemli bir azalma bulundu (Şekil 11).



Şekil 10. 1-10 µM konsantrasyonlarda 48 saat DOX uygulanan MDA-MB-231 hücrelerinde hücre canlılık oranı. A) MDA-MB-231 hücrelerinde 5 ve 8 µM dozlarda kontrol grubu hücrelerine kıyasla hücre canlılığında yaklaşık %50 oranında azalma bulundu (****p<0.0005; ****p<0.0001).



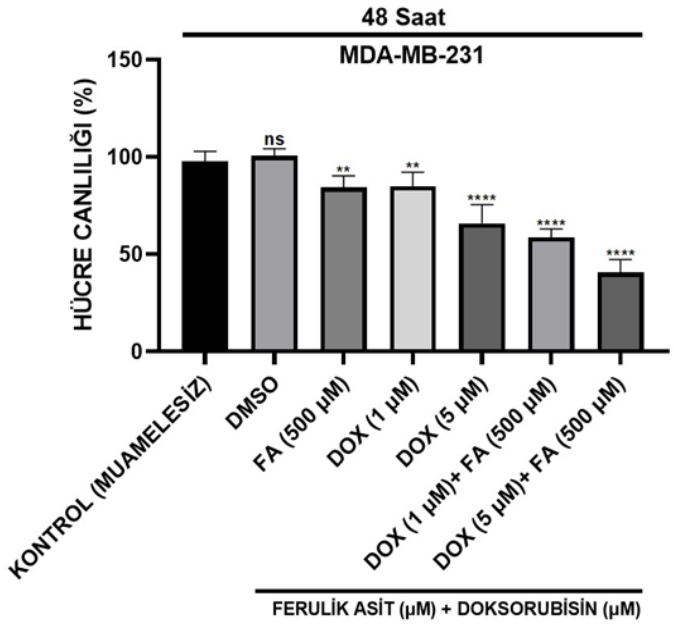
Şekil 11. 5-500 µM konsantrasyonlarda 48 saat FA uygulanan MDA-MB-231 hücrelerinde hücre canlılık oranı. A) MDA-MB-231 hücrelerinde 400 ve 500 µM dozlarda kontrol grubu hücrelerine kıyasla hücre canlılığında yaklaşık %50 oranında azalma bulundu (**p<0.0005; **p<0.0001).

MTS analiz sonuçlarımıza göre 48 saat 1 µM konsantrasyonda DOX uygulanan hücrelerde, hücre canlılığının %70'ye yakın olduğu bulundu. 48 saat 500 µM FA uygulanan hücrelerde, canlı hücrelerin yaklaşık olarak %65'e yakın oranda olduğu bulundu. Bu yüzden DOX ve FA ile kombinasyonunun etkisini analiz etmek için 48 saat 1 µM DOX ve 48 saat 500 µM FA konsantrasyonları uygun bulundu.

MTS analiz sonuçlarımıza göre 48 saat 5 µM konsantrasyonda DOX uygulanan hücrelerde, %50'ye yakın hücrenin canlı olduğu bulundu. 48 saat 500 µM FA uygulanan hücrelerde, hücrelerin yaklaşık olarak %65'e yakın hücrenin canlı olduğu bulundu. Bu yüzden DOX ve FA ile kombinasyonunun etkisini analiz etmek için 48 saat 5 µM DOX ve 48 saat 500 µM FA konsantrasyonları uygun bulundu.

MDA-MB-231 DOX ve FA kombinasyonunun hücre canlılığına etkisini incelemek için 1 µM DOX ve 500 µM FA ile tek başına ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyon olarak 48 saat muamele edildi. Analiz sonuçlarımıza göre, kontrol hücrelerine kıyasla DOX+FA kombinasyonun tek başına DOX ve tek başına FA uygulanan hücrelere göre hücre canlılığının önemli oranda azaldığı bulundu (Şekil 12). Ayrıca sonuçlarımız, DOX+FA kombinasyonunun MDA-MB-231 hücre

hattında tek başına DOX ve FA kullanımına göre daha etkili olduğu bulundu (Şekil 12).

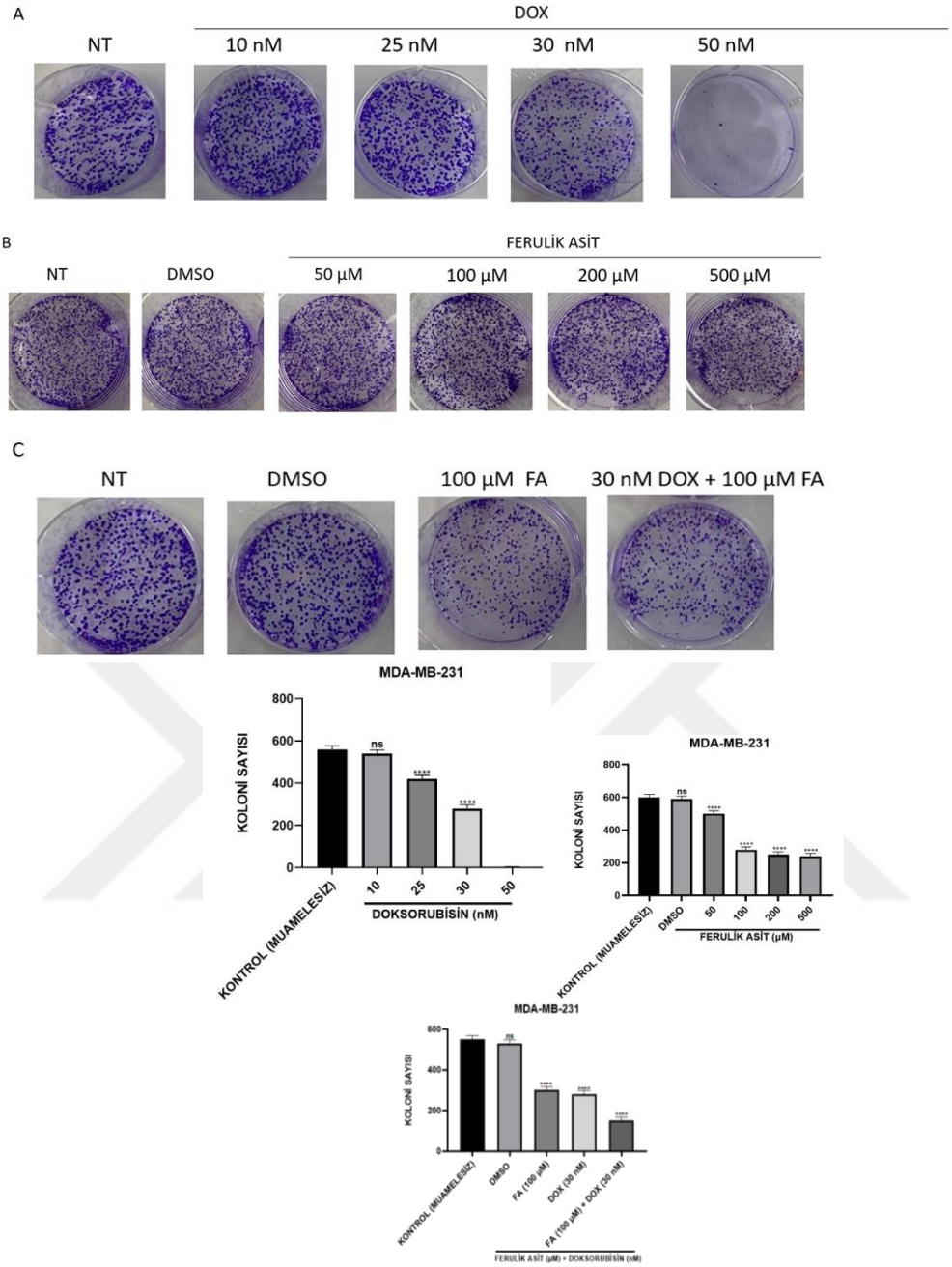


Şekil 12. MDA-MB-231 hücrelerinde 1-5 µM DOX, 500 µM FA ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyonun hücre canlılığına oranı. A) MDA-MB-231hücrelerinde 1 µM DOX, 500 µM FA ve 1 µM DOX+500 µM FA kombinasyonu ile 48 saat muamelesi sonucu, kontrole kıyasla %45-75 oranlarında azalma bulundu (****p<0.0001). DOX+FA kombinasyonu uygulanan hücrelerde, 1 µM DOX ve 500 µM FA kıyasla hücre proliferasyonunda azalma bulundu (****p<0.009; ****p<0.0001). B) MDA-MB-231hücrelerinde 5 µM DOX, 500 µM FA ve 5 µM DOX+500 µM FA kombinasyonu ile 48 saat muamelesi sonucu, kontrole kıyasla %45-75 oranlarında azalma bulundu (****p<0.0001). DOX+FA kombinasyonu uygulanan hücrelerde, 5 µM DOX ve 500 µM FA kıyasla hücre proliferasyonunda azalma bulundu (****p<0.009; ****p<0.0001).

4.2. DOX, FA ve kombinasyonun MDA-MB-231 hücrelerinin koloni oluşumuna etkisi

MDA-MB-231 hücreleri 2 ml medyum içeren 6 kuyucuklu plakaların her bir kuyucuğuna 1500 hücre olacak şekilde ekildi ve DOX için 10, 25, 30, 50 nM konsantrasyonlarda, FA için 50, 100, 200, 500 µM konsantrasyonlarda muamele edildi. Muamelesiz kontrol hücreleri kuyucuğun tabanını yaklaşık %85-90 oranında doldurduğunda kültür sonlandırıldı. Daha sonra DOX ve FA maddelerinin kontrole kıyasla %50 azalma görülen dozları ile kombin muamelesi yapıldı. MDA-MB-231 hücreleri için uygun bulunan dozlarda, 30 nM DOX ve 100 µM FA, tek başına ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyon olarak muamele edildi. MDA-MB-231

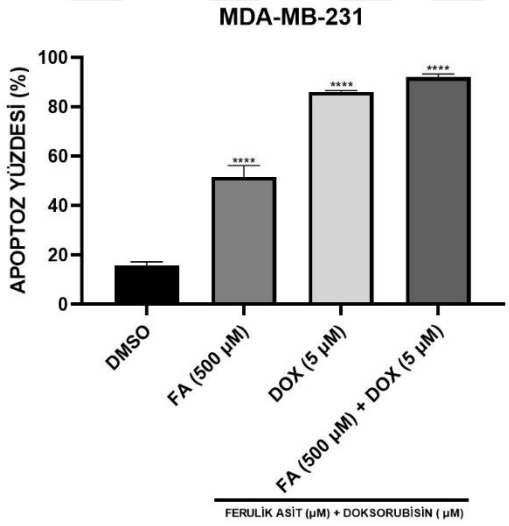
hücrelerinde 30 nM DOX uygulanan ve 100 µM FA uygulanan hücrelerde yaklaşık %50 oranında koloni oluşumunda azalma bulundu. %50 oranında azalma gösteren konsantrasyonlar sonrasında artan konsantrasyonlarda koloni oluşumunun tamamen baskılandığı bulunmadı. MDA-MB-231 hücre hattında DOX+FA kombinasyon uygulamasında, kontrol, 30 nM DOX ve 500 µM FA uygulamasına kıyasla koloni oluşumunda azalma bulundu (Şekil 13).



Şekil 14. MDA-MB-231 hücresinin 10-50 nM artan konsantrasyonlarda DOX, 50-500 µM artan konsantrasyonlarda FA ve kombinasyon uygulaması sonucu koloni sayısı. A) MDA-MB-231 hücresi 10-50 nM artan konsantrasyonlarda DOX muamelesi sonucu koloni oluşumunda, muamelesiz kolonilere kıyasla tüm dozlarda azalma bulundu (****p<0.0001). B) MDA-MB-231 hücresi 50-500 µM artan konsantrasyonlarda FA muamelesi, muamelesiz hücrelere kıyasla tüm dozlarda koloni oluşumunda sayısında azalma bulundu (**p<0.05; ****p<0.0001). C) MDA-MB-231 hücrelerinde 30 nM DOX, 100 µM FA ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyonlarının 48 saat muamelesi sonucu kontrole kıyasla koloni oluşumunda azalma bulundu (****p<0.0001). DOX+FA kombinasyonu uygulanan hücrelerde 30 nM DOX ve 100 µM FA uygulanan hücrelere kıyasla koloni oluşumunda azalma bulundu (****p<0.0001).

4.3. DOX, Ferulik Asit ve kombinasyonun MDA-MB-231 hücrelerinde apoptoza etkisi

MDA-MB-231 hücrelerinin DOX ve FA maddelerinin tek başına ve kombinasyon olarak muamelesi sonucu erken ve geç apoptoz (total apoptoz) oranlarının analizleri yapıldı. Bunun için, 96 kuyucuklu plakalara ekilen ve 48 saat 5 µM DOX, 500 µM FA ile ve aynı konsantrasyonlarda DOX ve FA kombinasyonu ile muamele edilen hücrelerde Annexin V kiti kullanılarak flow sitometride ölçüm yapıldı. MDA-MB-231 hücrelerinde kontrol hücrelere kıyasla, 5 µM DOX, 500 µM FA ile ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyon uygulaması sonucu apoptoz oranında artış bulundu. Ayrıca DOX+FA kombinasyonu uygulanan hücrelerde DOX ve FA kıyasla apoptozun arttığı bulundu. Bu artış kontrol hücrelere göre DOX+FA kombinasyonunda %90 oranında bulundu (Şekil 15).



Şekil 15. MDA-MB-231 hücrelerinin 5 µM DOX, 500 µM FA ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyonları ile muamelesi sonucu total apoptoz oranı. MDA-MB-231 hücreleri 5 µM DOX, 500 µM FA ve aynı konsantrasyonlarda kombinasyonları ile muamelesi sonucu muamelesiz hücrelere kıyasla total apoptoz oranında artış bulundu (*p<0.05; ***p<0.001; ****p<0.0001).DOX+FA kombinasyonu uygulanan hücrelerde, DOX ve FA a göre apoptoz oranında anlamlı bir artış bulundu (**p<0.01).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlar arasında en sık görülen malignitedir ve kadınlarda görülen tüm yeni kanser vakalarının yaklaşık %30'unu temsil etmektedir. Kadınlarda kansere bağlı ölümlerin ikinci nedenidir ve ABD'de yılda 41.000'den fazla ölümden sorumludur ve kadınlarda kansere bağlı tüm ölümlerin tahmini %15'ini oluşturmaktadır. Erken tanı ve kapsamlı tedavi stratejilerindeki ilerlemeler sayesinde meme kanseri hastalarının prognozu iyileşmiştir (Lyang ve ark., 2019).

Östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2) dahil olmak üzere moleküler belirteçlere dayanarak, meme kanseri üç ana alt tipe ayrılır: hormon reseptörü (HR) pozitif, HER2 pozitif ve üçlü negatif meme kanseri (TNBC). TNBC, tüm meme karsinomlarının yaklaşık %15 ila %20'sini oluşturmaktadır. HR-pozitif BC'ler ile karşılaştırıldığında, TNBC daha kötü bir prognoza sahiptir. Hastaların %50'sinden fazlası tanıdan sonraki ilk 3 ila 5 yıl içinde nüks yaşamaktadır ve mevcut tedavilere göre genel sağkalım 10,2 aydır (Li ve ark., 2022).

Bu nedenle, yüksek ilaç direnci, hızlı ve kötü prognozu ve kesin terapötik hedeflerin olmamasından dolayı bugüne kadar FDA (ABD Gıda ve İlaç Dairesi) ve EMA (Avrupa İlaç Ajansı) tarafından TNBC'li hastalar için etkili bir tedavi henüz onaylanmamıştır (Sabit ve ark., 2020). Diğer bir açıdan tümör hücrelerinde kemoterapiye karşı ilaç direnci gelişir ve üstelik kemoterapi tümörlü olmayan sağlıklı hücreler için de toksik etki gösterir ve hastayı riske atan birden fazla olumsuz yan etkilere yol açar. Bu sebeple, metastatik meme kanser hastalarının tedavisinde kemoteröpatiklerin kullanımında da zorlanılmakta ve bu zorlukların üstesinden gelmek için alternatif daha güvenli ve etkin yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine acil ihtiyaç duyulmaktadır (Yuan ve ark., 2016).

Son yıllarda artış gösteren çalışmalar, bitki özlerinin antitümör etkilerini gösterdiğinden, bitki özleri, meme kanseri vakalarını azaltmak için pratik bir yaklaşım olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, kemoterapötiklerin sınırlı olması ve kemorezistansın sıklıkla ortaya çıkması nedeniyle, bu bitkisel bitki ekstraktları, meme kanseri metastazı için etkili antitümör ilaçların araştırılmasında da artış göstermektedir. Bitkilerin yaygın bir bileşeni olan ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit), ilk olarak 1866'da Ferula foetida'dan izole edilmiştir (Sgarbossa ve ark., 2015). Serbest radikalleri temizleyerek ve sitoprotektif sistemlerin düzenlenmesi yoluyla hücre stres tepkisini artırarak güçlü bir antioksidan olarak görev yaptığı açıklanmıştır. Bununla birlikte ferulik asidin Alzheimer, kolon kanseri, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve cilt hastalığı gibi birçok bozukluk için potansiyel bir tedavi sergilediği de bulunmuştur. Ferulik asidin hücre büyümesini ve meme kanseri metastazını engellediği ayrıntılı mekanizmalar henüz tam olarak açıklanmamıştır (Zhang ve ark., 2016).

Mide kanseri SDC-7901 hücrelerinde FA'nın apoptozu indükleyebileceğini ve p53'ün mRNA ve protein düzeyinde ekspresyonunun FA aracılı ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Umut ve ark.,2016). FA'nın MIA PaCa-2 pankreas kanseri hücrelerinde p53 ekspresyon seviyesini artırırken siklin D1 ve siklin bağımlı kinaz (CDK) 4/6 ekspresyon seviyelerini azalttığını Bulunmuştur Ayrıca, FA'nın bu hücrelerde koloni oluşumunu azalttığı ve hücre istilası ve göçünü engellediği bulunmuştur. Bu sonuçlara gör, FA'nın p53 ekspresyonunu artırarak MIA PaCa-2 hücrelerinin apoptozunu teşvik edebileceğini ve böylece antitümör bir etki gösterebileceği bildirilmiştir (Kumar ve ark.,2020). Kitosan kaplı FA yüklü katı lipid nanopartiküllerin ve folat konjugatının (FFA) kolon kanserindeki hedefe yönelik etkinliğini değerlendiren bir çalışmada; kontrol hücreleri ile karşılaştırıldığında, FFA ile tedavi edilen HT-29 hücrelerde artmış p53 seviyesi ve artmış apoptoz bulunmuştur. Daha ileri çalışmalar, FFA'nın kolon kanseri hücrelerinde sitokrom C salınımını tetikleyebileceğini ve FA tedavisinden sonra (kaspaz)-9 ve -3 ekspresyonunun arttığını göstermiştir. Bu sonuçlar, FA’nın p53 aracılı intrinsik apoptozu aktive edebileceğini ve bu hedefli kanser tedavisinde etkili bir ilaç olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Xingxun ve ark.,2023).

İnsan servikal kanser ksenograft modelinde, FA tedavisinin doza bağlı bir şekilde tümör ağırlığını azalttığı, bulunmuştur (Zhang ve ark.,2019). Mide kanseri MGC-803 hücreleri üzerinde FA tedavisi kullanmış ve sonuçlar FA'nın Bcl-2-ilişkili X (Bax) mRNA ve proteininin ekspresyonunu artırabildiğini ve Bcl-2 mRNA ve proteininin ekspresyonunu azaltabildiğini, böylece MGC-803 hücrelerinin apoptozu etkili bir şekilde indüklediği ve proliferasyonu inhibe ettiğini göstermiştir (Wang ve ark.,2021). FA'nın bir izomeri olan izoferulik asit de insan böbrek karsinomu A-498 hücrelerinin proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe etmiş, bölünmüş kaspaz-3 ekspresyonunu indüklemiş ve A-498 hücrelerinin apoptozunu teşvik etmiştir; ayrıca, izoferulik asit doz bağımlı olarak β-katenin ve MYC proto-onkogen (c-Myc) ekspresyonunu aşağı doğru düzenleyerek apoptozu indüklemiştir (Zhang ve ark.,2021). Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde, sunulan tez çalımasında da agresif meme kanser hücrelerind FA'nın hücre canlılığını/proliferasyonunu ve koloni oluşumunu önemli oranda baskıladığı, apoptozu indüklediği bulundu.

DOX, çeşitli tümörler için antikanser ajanı olarak yaygın olarak kullanılan bir antrasiklindir. Tümör hücrelerinde DNA hasarına neden olarak DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu engeller ve mitoz bölünmeyi önler. Ancak yaygın kullanılmasına rağmen, toksik olup sağlıklı dokulara da zarar verir, bu nedenle tedavide hastaların yaşam kalitesini olumsuz yönde etkiler. Ayrıca, tümör hücrelerinde DOX'a karşı direncin gelişmesi tedaviyi zorlaştırmaktadır. Sitotoksisitesinden dolayı DOX'un direncin üstesinden gelmek için DOX dozunu artırmanın zor olduğu açıklanmıştır. Dolayısıyla, metastatik meme kanser hastalarının tedavisinde kullanılmasına rağmen, ilaç direnci ve kardiyotoksisi neden olduğu için DOX kullanımında zorlanılmaktadır. Bu nedenle, DOX'un etkilerini ve direncini azaltmak için yeni stratejilere ve tedavilere ihtiyaç vardır.Bu verilerden dolayı çalışmamızda ayrıca DOX'in etkiliğini artırmak ve yan etkilerini azaltmak için DOX ve ferulik asit kombinasyon kullanımının TNBC hücrelerinin kanserojenik özelliklerini baskılmak için etkili olabileceği düşünüldü ve ferulik asit ve DOX kombinasyonunun hücrelerin proliferasyonuna, koloni oluşumuna ve apopitoz oranına etkisi araştırıldı.

Sunulan çalışmada, 48 saat boyunca 500 µM ferulik asit ve 5 µM DOX kombinasyonun uygulandığı TNBC hücrelerinde hem kontrol hücrelerine göre

hemde DOX ve ferulik asitin ayrı ayrı uygulandığı hücrelere göre, hücre canlılığının azaldığı, apoptoz oranın arttığı, MDA-MB-231 hücrelerinde 30 nM DOX, 100 μM ferulik asit konsantrasyonda ve koloni oluşumunun önemli oranda baskılandığı bulundu. Bu verilerimiz ilk kez doğal bileşik olan ferulik asit DOX ile birlikte kullanımının DOX'un etkinliğini artırdığını gösterdi.

Sonuç olarak; literatürde ilk kez meme kanser hücrelerinde FA ve DOX kombinasyonunun düşük konsantrasyonlarda DOX'un etkinliğini artırdığını gösterdi. Bu nedenle de DOX'un yüksek konsatrasyonlardaki toksik etkisini azaltmak için düşük konsantrasyonlarda DOX ile FA kombinasyonun yeni ve etkili bir tedavi stratejisi olarak kullanılabileceğini, TNBC hastalarının tedavisinde kullanılan DOX'un etkinliğini artırmak için yeni alternatif bir yaklaşım olarak değerlendirilmesine öncülük edebileceği düşünülmektedir. Ancak, bu düşüncemizi ve bulgularımızı desteklemek için in vivo şartlarda pre-klinik çalışmaların FA'nın etkili olduğu sinyal yolaklarının açığa çıkartılmasına yönelik moleküler düzeyde araştırmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

Abdel-Daim MM. Kilany OE. Khalifa HA, Ahmed AAM. Allicin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis, Cancer Chemother. Pharmacol. 2017;80 (4): 745-753.

Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100: 3983-3988.

Al-Mutairi A, Rahman A, Rao MS. Low doses of thymoquinone and ferulic acid in combination efectively inhibit proliferation of cultured MDA-MB 231 breast adenocarcinoma cells. Nutr Cancer. 2021;73(2):282-289.

Babbar R, Dhiman S, Grover R, Kaur A, Arora S. A comprehensive review on therapeutic applications of ferulic acid and its novel analogues: a brief literature. Mini Rev Med Chem, 2021;21(12):1578-1593.

Bane AL, Beck JC, Bleiweiss I, et al. BRCA2 mutation-associated breast cancers exhibit a distinguishing phenotype based on morphology and molecular profiles from tissue microarrays. Am J Surg Pathol. 2007; 31: 121-128.

Bao X, Li W, Jia R, Meng D, Zhang H, Xia L. Molecular mechanism of ferulic acid and its derivatives in tumor progression. Pharmacol Rep. 2023;75(4):891-906.

Basho RK, Gilcrease M, Murthy RK, et al. Targeting the PI3K/AKT/mTOR Pathway for the Treatment of Mesenchymal Triple-Negative Breast Cancer: Evidence From a Phase 1 Trial of mTOR Inhibition in Combination With Liposomal Doxorubicin and Bevacizumab. JAMA oncology. 2017; 3: 509-515.

Basse C, and Arock M. The increasing roles of epigenetics in breast cancer: Implications for pathogenicity, biomarkers, prevention and treatment. Int J Cancer. 2015; 137: 2785-2794.

Brewer HR, Jones ME, Schoemaker MJ, et al. Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. Breast Cancer Res Treat. 2017; 165: 193-200.

Cao Y, Zhang H, Tang J, Wang R. Ferulic acid mitigates growth and invasion of esophageal squamous cell carcinoma through inducing ferroptotic cell death. Dis Markers. 2022;2022:4607966

Catsburg C, Miller AB, and Rohan TE. Active cigarette smoking and risk of breast cancer. Int J Cancer. 2015; 136: 2204-2209.

Chang YJ, Hou YC, Chen LJ. Is vegetarian diet associated with a lower risk of breast cancer in Taiwanese women?, BMC Public Health, vol. 2017;17, no. 1,

Chinnaiyan AM. The apoptosome: heart and soul of the cell death machine. Neoplasia 1999;1:5-15.

Christidi E, Brunham LR. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardiotoxicity. Cell Death Dis. 2021;3: 7-14.

Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. Biochem J, 1997;326(Pt 1):1-16.

Cohen JJ. Programmed cell death in the immune system. Adv Immunol, 1991;50:55-85.

Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. Nat Rev Cancer 2002;2:647-656.

Cotran RS, Kumar, V, Collins T. Cellular pathology I: cell injury and cell death. In: Cortan RS, Kumar V, Collins T, editors. Robbins Pathologic Basis of Disease. 6. W.B. Saunders Co; Philadelphia, PA: 1999. P

Dall GV, and Britt KL. Estrogen Effects on the Mammary Gland in Early and Late Life and Breast Cancer Risk. Front Oncol. 2017; 7: 110-119

Denecker G, Vercammen D, Declercq W, Vandenabeele P. Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors. Cell Mol Life Sci, 2001;58:356-370.

Dikshit RP. Gupta Ramasundarahettige CC. Cancer mortality in India: a nationally representative survey," The Lancet, 2012; 379: 1807-1816,

Dirks-Naylor, A.J. The role of autophagy in doxorubicin-induced cardiotoxicity. Life Sci. 2013; 93: 913-916.

Dodurga Y, Eroğlu C, Seçme M, Elmas L, Avcı ÇB, ŞatıroğluTufan NL. Anti-proliferative and anti-invasive efects of ferulic acid in TT medullary thyroid cancer cells interacting with URG4/ URGCP. Tumour Biol, 2016;37(2):1933-40.

Elizalde PV, Cordo Russo RI, Chervo MF, et al. ErbB-2 nuclear function in breast cancer growth, metastasis and resistance to therapy. Endocr Relat Cancer. 2016; 23: 243-257.

Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. Toxicol Pathol, 2007;35(4):495-516.

Enari M, Sakahira H, Yokoyama H, Okawa K, Iwamatsu A, Nagata S. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. Nature, 1998;391:43-50.

Eroğlu C, Seçme M, Bağcı G, Dodurga Y. Assessment of the anticancer mechanism of ferulic acid via cell cycle and apoptotic pathways in human prostate cancer cell lines. Tumour Biol. 2015;36(12):9437-9446.

Esawi, E, Alshaer, W, Mahmoud, I.S, Alqudah, D.A, Azab, B, Awidi, A. Aptamer-Aptamer Chimera for Targeted Delivery and ATP-Responsive Release of Doxorubicin into Cancer Cells. Int. J. Mol. Sci. 2021; 22:12940-12949.

Fahlen M, Fornander T, Johansson H, et al. Hormone replacement therapy after breast cancer: 10 year follow up of the Stockholm randomised trial. Eur J Cancer. 2013; 49: 52-59.

Fahrioğlu U, Dodurga Y, Elmas L, Seçme M. Ferulic acid decreases cell viability and colony formation while inhibiting migration of MIA PaCa-2 human pancreatic cancer cells in vitro. Gene. 2016;576(1 Pt 3):476-82.

Fan CK. Georgiou R. Morris HA. McKinnon RA. Keefe DMK. Howe PR. Xian, CJ. Combination breast cancer chemotherapy with doxorubicin and cyclophosphamide damages bone and bone marrow in a female rat model, Breast Cancer Res. Treat. 2017;165 (1): 41-51.

Fiers W, Beyaert R, Declercq W, Vandenabeele P. More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. Oncogene 1999;18:7719-7730.

Fu J, Wang H. Inhibitory efect of ferulic acid mediated by miR34a on transplanted tumor of human cervical cancer in nude mice. Chin J Gerontol. 2021;41(13):2833-2835.

Ghoncheh M. Pournamdar Z. Salehiniya H. Incidence and mortality and epidemiology of breast cancer in the world," Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2016;17: 43-46.

Goldstein JC, Waterhouse NJ, Juin P, Evan GI, Green DR. The coordinate release of cytochrome c during apoptosis is rapid, complete and kinetically invariant. Nat Cell Biol 2000;2:156-162.

Guo F, Zhao RM, Li JL, Liu YX, Yang SJ. Ferulic acid inhibits lung cancer cell proliferation and metastasis by regulating JAK2/STAT6 immune signaling pathway. Chin J Immunol. 2021;37(04):459-462.

Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011;144(5):646-674.

Helmy SA, El-Mofty S, El Gayar AM, El-Sherbiny IM, El-Far YM. Novel doxorubicin / folate-targeted trans-ferulic acid-loaded PLGA nanoparticles combination: In-vivo superiority over standard chemotherapeutic regimen for breast cancer treatment. Biomed Pharmacother. 2022;145:112376.

Hu X, Huang W, and Fan M. Emerging therapies for breast cancer. Journal of hematology & oncology. 2017; 10: 98-105.

Kalyanaraman, B, Joseph, J, Kalivendi, S, Wang, S, Konorev, E, Kotamraju, S. Doxorubicin-induced apoptosis: Implications in cardiotoxicity. Mol. Cell. Biochem. 2002;234: 119-124.

Kashyap D, Pal D, Sharma R, Garg VK, Goel N, Koundal D, Zaguia A, Koundal S, Belay A. Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. Biomed Res Int. 2022; 18:9605439.

Kawiak A. Molecular Research and Treatment of Breast Cancer. Int J Mol Sci. 2022; 25;23(17):9617-9625.

Kim JW. Choi J. Jeong SH. The effects of physical activity on breast cancer survivors after diagnosis, Journal of cancer prevention, 2013; (18)3:19-25.

Knight JA, Fan J, Malone KE, et al. Alcohol consumption and cigarette smoking in combination: A predictor of contralateral breast cancer risk in the WECARE study. Int J Cancer. 2017; 141: 916-924.

Lehmann BD. Pietenpol JA. Tan AR. Triple-negative breast cancer: molecular subtypes and new targets for therapy," American Society of Clinical Oncology Educational Book, vol. 2015; (35):35.-e39.

Li X, Wu J, Xu F, Chu C, Li X, Shi X, et al. Use of ferulic acid in the management of diabetes mellitus and its complications. Molecules. 2022;27(18):6010-6020

Liu J-Y, Chen T-J, and Hwang S-J. The Risk of Breast Cancer in Women Using Menopausal Hormone Replacement Therapy in Taiwan. International journal of environmental research and public health. 2016; 13: 482-489

Ma Y, Yang L, Ma J, Lu L, Wang X, Ren J, Yang J. Rutin attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via regulating autophagy and apoptosis. Biochim. Biophys. Acta BBA Mol. Basis Dis. 2017;1863: 1904-1911.

Majeed W, Aslam B, Javed I, et al. Breast cancer: major risk factors and recent developments in treatment. APJCP. 2014; 15: 3353-3358.

Makarem N, Chandran U, Bandera EV, et al. Dietary fat in breast cancer survival. Annu Rev Nutr. 2013; 33: 319-348.

Marphatia AA. Ambale GS. and Reid AM. Women's marriage age matters for public health: a review of the broader health and social implications in South Asia," Frontiers in public health, 2017; 5: 269-275.

Massihnia D, Galvano A, Fanale D, et al. Triple negative breast cancer: shedding light onto the role of pi3k/akt/mtor pathway. Oncotarget. 2016; 7: 60712-60722.

McDonald JA. Goyal A. and M. B. Terry, "Alcohol intake and breast cancer risk: weighing the overall evidence," Current breast cancer reports, vol. 5, no. 3, pp. 208-221, 2013.

Mei S, Hong L, Cai X, Xiao B, Zhang P, Shao L. Oxidative stress injury in doxorubicin-induced cardiotoxicity. Toxicol. Lett. 2019; 307: 41-48.

Molnár A. Molnár B. Vízkeleti ÁL. Breast carcinoma subtypes show different patterns of metastatic behavior," Virchows Archiv, vol. 2017; 470:(3), 275-283.

Morana O, Wood W, Gregory CD. The apoptosis paradox in cancer. Int J Mol Sci. 2022;23(3):1328-1335.

Narod SA. Hormone replacement therapy and the risk of breast cancer. Nature reviews. Clinical oncology. 2011; 8: 669-676.

Nasr Bouzaiene N, Kilani Jaziri S, Kovacic H, Chekir-Ghedira L, Ghedira K, Luis J. The efects of cafeic, coumaric and ferulic acids on proliferation, superoxide production, adhesion and migration of human tumor cells in vitro. Eur J Pharmacol. 2015;766:99-105.

Niu YX, Zhang Y, Wei LQ, Xu Y. The inducing efects of ferulic acid on the apoptosis of gastric cancer SGC-7901 cells and lts infuence on COX-2, survivin, XIAP and p53. Western J Tradit Chin Med. 2019;32(01):19-23.

Nwabo Kamdje AH. Seke Etet P. Vecchio FL. Muller JM. Krampera M. Lukong K. E. Signaling pathways in breast cancer: therapeutic targeting of the microenvironment, Cell Signal 2014;26 (12): 2843-2856.

Ogura T, Azuma K, Sato J, Kinowaki K, Takayama K.-I, Takeiwa T, Kawabata H, Inoue S. OCT1 Is a Poor Prognostic Factor for Breast Cancer Patients and Promotes Cell Proliferation via Inducing NCAPH. Int. J. Mol. Sci. 2021; 22:11505-11612.

Ramanakumar, AV. Need for epidemiological evidence from the developing world to know the cancer-related risk factors," Journal of Cancer Research and Therapeutics, vol. 2007; (3)1: 29-33,

Rukkumani R, Aruna Suresh Varma KP Padmanabhan Menon, V. Hepatoprotective role of ferulic acid: a dose-dependent study, J. Med. Food 2004; 7 (4): 456-461.

Senthil Kumar C, Thangam R, Mary SA, Kannan PR, Arun G, Madhan B. Targeted delivery and apoptosis induction of trans-resveratrol-ferulic acid loaded chitosan coated folic acid conjugate solid lipid nanoparticles in colon cancer cells. Carbohydr Polym. 2020;231: 115682.

Shen F. Chu S. Bence AK. Bailey Xue BX, Erickson PA. Montrose MH. Beck WT. Erickson LC. Quantitation of doxorubicin uptake, efflux, and modulation of multidrug resistance (MDR) in MDR human cancer cells, J. Pharmacol. Exp. Ther. 2008;324 (1): 95-102.

Shi Y, Chen X, Qiang S, Su J, Li J. Anti-oxidation and antiinflammatory potency evaluation of ferulic acid derivatives obtained through virtual screening. Int J Mol Sci. 2021;22(21):11305-11310.

Smith-Warner SA. Spiegelman D. Yaun SS. Alcohol and breast cancer in women: a pooled analysis of cohort studies," JAMA., vol. 1998; (279) 7: 535-540.

Sun YS, Zhao Z, Yang ZN, Xu F, Lu HJ, Zhu ZY, Shi W, Jiang J, Yao PP, Zhu HP. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. Int J Biol Sci. 2017;13(11):1387-1397.

Sun YS. Zhao Z. Yang ZN. Risk factors and preventions of breast cancer," International journal of biological sciences, vol. 2017; (13):11:1387-1395.

Surakasula A. Nagarjunapu GC. Raghavaiah KV. A comparative study of pre- and post-menopausal breast cancer: risk factors, presentation, characteristics and management," Journal of research in pharmacy practice, 2014; (3) 1: -19.

Syahputra RA, Harahap U, Dalimunthe A, Pandapotan M, Satria D. Protective effect of Vernonia amygdalina Delile against doxorubicin-induced cardiotoxicity. Heliyon 2021; 7: e07434.

Syahputra RA, Harahap U, Harahap Y, Gani AP, Dalimunthe A, Ahmed A, Zainalabidin S. Vernonia amygdalina Ethanol Extract Protects against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity via TGFβ, Cytochrome c, and Apoptosis. Molecules. 2023; 24;28(11):4305-43011.

Syahputra, R.A, Harahap, U, Dalimunthe, A, Nasution, M.P, Satria, D. The Role of Flavonoids as a Cardioprotective Strategy against Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity: A Review. Molecules 2022, 27: 1320-1329.

Thomas, G. https://www.nature.com/articles/nrc2663 Erişim Tarihi: (20.12.2023).

TTOD,https://www.kanser.org/saglik/toplum/kanser-turleri-alt-kategori/meme-organi (Erişim Tarihi: 10.11.2023).

TTOD,https://www.kanser.org/saglik/toplum/kanser-turleri-alt-kategori/meme-kanseri-risk-faktorleri Erişim Tarihi: (02.11.2023)

Wang K, Liao GJ, Liu WJ. Efect of ferulic acid on proliferation, invasion and apoptosis of osteosarcoma cells. Chin J Exp Surg. 2019;01:51-53.

Wang S, Long S, Deng Z, Wu W. Positive Role of Chinese Herbal Medicine in Cancer Immune Regulation. Am J Chin Med. 2020;48(7):1577-1592.

Wang S, Long S, Wu W. Application of Traditional Chinese Medicines as Personalized Therapy in Human Cancers. Am J Chin Med. 2018;46(5):953-970.

Wang T, Gong X, Jiang R, Li H, Du W, Kuang G. Ferulic acid inhibits proliferation and promotes apoptosis via blockage of PI3K/Akt pathway in osteosarcoma cell. Am J Transl Res. 2016;8(2):968-980.

Wang Y, Zhang Q, Chen Y, Liang CL, Liu H, Qiu F, Dai Z. Antitumor effects of immunity-enhancing traditional Chinese medicine. Biomed Pharmacother. 2020; 121:109570.

Washbrook E. Risk factors and epidemiology of breast cancer. Women's Health Medicine. 2006; 3: 8-14.

Wei, Y, Zhao, J, Xiong, J, Chai, J, Yang, X, Wang, J, Chen, J, Wang, J. Wogonin reduces cardiomyocyte apoptosis from mitochondrial release of cytochrome c to improve doxorubicin-induced cardiotoxicity. Exp. Ther. Med. 2022; 23: 1-8.

Welsh JE. Chapter 40 - Animal Models for Studying Prevention and Treatment of Breast Cancer. Animal Models for the Study of Human Disease (https://www.sciencedirect.com/science/book/9780124158948 (E.T. 02.12.023)

Wirtz P. Baumann FT. Physical activity, exercise and breast cancer - what is the evidence for rehabilitation, Aftercare, and Survival? A Review," Breast Care, vol. 13, 2018https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29887785/. (E.T. 12.12.2023).

Wu M, Wang G, Hu W, Yao Y, Yu XF. Emerging roles and therapeutic value of exosomes in cancer metastasis. Mol Cancer. 2019; 30;18(1):53-61.

Wu X, Lin L, Wu H. Ferulic acid alleviates lipopolysaccharideinduced acute lung injury through inhibiting TLR4/NF-κB signaling pathway. J Biochem Mol Toxicol. 2021;35(3): e22664.

Yoshida, M, Shiojima, I, Ikeda, H, Komuro, I. Chronic doxorubicin cardiotoxicity is mediated by oxidative DNA damageATM-p53-apoptosis pathway and

attenuated by pitavastatin through the inhibition of Rac1 activity. J. Mol. Cell. Cardiol. 2009; 47: 698-705.

Zare, M.F.R, Rakhshan, K, Aboutaleb, N, Nikbakht, F, Naderi, N, Bakhshesh, M, Azizi, Y. Apigenin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity via reducing oxidative stress and apoptosis in male rats. Life Sci. 2019;232: 116623.

Zhang C, Liu J, Xu D, Zhang T, Hu W, Feng Z. Gain-of-function mutant p53 in cancer progression and therapy. J Mol Cell Biol. 2020;12(9):674-687.

Zhang L, Liao Y, Tang L. MicroRNA-34 family: a potential tumor suppressor and therapeutic candidate in cancer. J Exp Clin Cancer Res. 2019;38(1):53-60

Zhang M, Lee AV, and Rosen JM. The Cellular Origin and Evolution of Breast Cancer. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2017; 7: a027128.

Zhang QF, Liu W, Liu JX, Qiu J, Zhang Y, Tian CH, et al. Efect of isoferulic acid on inhibiting cell proliferation and inducing cell apoptosis in human renal carcinoma cell A-498. J Clin Urol. 2021;36(07):549-554.

Zhang Y, Li HL, Wang HP, Gu J, Ma CL, Wu HY. Efects of ferulic acid on gastric cancer cell line MGC-803 proliferation. Chin J Inf Tradit Chin Med. 2016;23(09):70-73.

Zhang Y, Li M, Gao X, Chen Y, Liu T. Nanotechnology in cancer diagnosis: progress, challenges and opportunities. J Hematol Oncol. 2019; 17;12(1):137-145.

Zhang, S, Liu, X, Bawa-Khalfe, T, Lu, L.-S, Lyu, Y.L, Liu, L.F, Yeh, E.T.H. Identification of the molecular basis of doxorubicininduced cardiotoxicity. Nat. Med. 2012; 18:1639-1642.

Zhao J, Gao J, Li H. Ferulic acid confers protection on islet β cells and placental tissues of rats with gestational diabetes mellitus. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 2020;66(1):37-41.

Zhou Y, Zhang Y, Gong H, Luo S, Cui Y. The Role of Exosomes and Their Applications in Cancer. Int J Mol Sci. 2002; 11;22(22):12204-12210.

FERULİK ASİTİN MEME KANSER HÜCRELERİNDE APOPİTOTİK HÜCRE ÖLÜMÜNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

ORİJİNALLİK RAPORU

%23	%18	%3	%18
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%4
2	Submitted to Erciyes Ãniversitesi Öğrenci Ödevi	%4
3	evrimagaci.org İnternet Kaynağı	%2
4	Submitted to Bülent Ecevit Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%2
5	acikerisim.iku.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
6	acikerisim.baskent.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	%1
7	Submitted to Çankırı Karatekin University Öğrenci Ödevi	%1
8	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
9	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK)	%1

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Sena ÖZKUL

Uyruğu : Türkiye (TC)

EĞİTİM

DERECE	KURUM	MEZUNİYET
Lisans	Nuh Naci Yazgan Üniversiyesi	100/ 75,08
Lise	75.Yıl Cumhuriyet Anadolu Lisesi	100/ 80

İŞ DENEYİMLERİ

YIL	KURUM	GÖREV
2017	Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi	Stajyer
2018	Kayseri Acıbadem Hastanesi Onkoloji Servisi	Stajyer

YABANCI DİL

İngilizce - Orta Seviye

Almanca - Başlangıç Seviyesi

BİLDİRİ

7th International Erciyes Conference On Scientific Research	-	Flavopiridolün Meme Kanser Hücrelerinde Canlılığa Etkisi
7th International Erciyes Conference On Scientific Research	-	Glioblastoma Hücre Hattı Olan U-87MG Hücrelerinde Timokinonun Hücre Canlılığına Etkisi
7th International Erciyes Conference On Scientific Research	-	Glioblastoma Hücrelerinde Temozolomid ve miR-484 Kombinasyonunun Hücre Proliferasyonuna Etkisi

12th International Molecular Biology and Biotechnology Congress	- Ferulik Asit ve Doksorobusin Kombinasyonun Meme Kanser Hücrelerinde Hücre Proliferasyonuna Etkisi

AKTİVİTELER

İş Güvenliği Eğitimi