



**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİP-2 DİYABETLİ VE MEME KANSERLİ HASTALARDA İNSAN
ANTİMİKROBİYAL KATYONİK PEPTİTLERİN DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

SERCAN KAPANCIK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

SİVAS-2015

**T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TİP-2 DİYABETLİ VE MEME KANSERLİ HASTALARDA İNSAN
ANTİMİKROBİYAL KATYONİK PEPTİTLERİN DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

SERCAN KAPANCIK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç.Dr.V.KENAN ÇELİK**

SİVAS-2015

“Tip-2 Diyabetli ve Meme Kanserli Hastalarda İnsan Antimikrobiyal Katyonik Peptitlerin Düzeylerinin Araştırılması” adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Sevtap BAKIR

Üye Doç. Dr. Köksal DEVECİ

Üye (Danışman) Doç.Dr. V.Kenan ÇELİK

ONAY

Bu tez çalışması 15/06/2015 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali ÇELİKSÖZ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır. Bu tez çalışması Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: T-553).

ÖZET
TİP-2 DİYABETLİ VE MEME KANSERLİ HASTALARDA İNSAN
ANTİMİKROBİYAL KATYONİK PEPTİTLERİN DÜZEYLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Sercan KAPANCIK

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. V. Kenan ÇELİK

2015, 66 sayfa

Bu çalışmada, Tip-2 diyabeti olan ve olmayan meme kanserin de ve yalnızca tip-2 diyabetli bireylerin serumlarında antimikrobiyal etkili katyonik peptidlerin (HNP-3, HNP-4, LL-37, HBD-1, HBD-3) ve D vitaminin düzeyleri ölçülmüştür. Çalışmanın amacı meme kanseri ve Tip2 diyabette bu parametrelerin düzeylerinin saptanarak kontrol grubuna ve birbirlerine göre farklılıklarının belirlenmesidir.

DeneySEL verilere göre; Her bir gruptaki bireylerin HNP-3 değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmuştur($p<0,05$). Gruplara ait HNP-3 değerleri ikişerli karşılaştırıldığında (Grup 1 ile 2, grup 1 ile 3, ve grup 1 ile 4) farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) diğer gruplar arasındaki (grup 2 ile 3, 2 ile 4, ve 3 ile 4) farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Gruplara ait HNP-4, LL-37, HBD-1 ve HBD-3 ölçümleri karşılaştırıldığında ise farklılık önemsiz bulunmuştur. ($p>0,05$). D vitamini yönünden gruplar karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplar ikişerli karşılaştırıldığında (Grup 1 ile 2, grup 1 ile 3, grup 1 ile 4) arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$), diğer gruplar (Grup 2 ile 3, grup 2 ile 4, grup 3 ile 4) arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Çalışmamızda antimikrobiyal etkili katyonik peptidlerin hastalıkla ilişkileri incelendiğinde; Tüm peptitlerin meme kanserinde arttığı, diyabette ise α defensinler hariç diğer üçünde (LL 37, HBD1 ve 3) artış olduğu saptanmıştır. Birçok kanser araştırmalarında her ne kadar antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin tümör belirteci olabileceği söylene de bulgularımız böyle bir tespitle mutlaka diyabet varlığının araştırılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur. Aksi takdirde yalancı pozitif sonuçlar hatalı teşhis ve tedavilere neden olabilir. Diğer taraftan diyabet grubunda α defensinlerin miktarlarının azalması bağışıklık sistemlerini olumsuz etkileyerek düşüreceğinden enfeksiyonlara yakalanma riskleri de artacaktır.

Anahtar Kelimeler: Meme Kanseri, Tip2 diyabet, Antimikrobiyal etkili katyonik peptitler, HNP-3, HNP-4, LL-37, HBD-1, HBD-3, Vitamin D

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL CATIONIC PEPTIDES LEVELS AMONG THE PATIENTS WHO HAVE TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND BREAST CANCER

Sercan KAPANCIK

Master of Science Thesis, Department of Biochemistry
Supervisor: Associate Prof. Dr. V. Kenan ÇELİK
2015, 66 pages

In this study it was measured antimicrobial cationic peptides levels and vitamin D levels among the patients who have only breast cancer, only type 2 diabetes mellitus, both type 2 diabetes mellitus and breast cancer. Aim of the study is to determine these parameter levels on breast cancer and type 2 diabetes mellitus and find out the differences among themselves and control group.

According to experimental datum, when we compare HNP-3 level with each group the difference was found significant ($p < 0,05$). When it was compared within the groups two each two at a time differences were found significant. On the other hand, differences among the other groups (group 2 and 3, 2 and 4, 3 and 4) were found irrelevant ($p < 0,05$). While we compare the data for HNP-4, LL-37, HBD-1 and HBD-3 on group difference wasn't important to as well ($p > 0,05$). When we equate the difference in terms of vitamin D it was found significant ($p < 0,05$). While it was compared within the groups two each two at a time as group 1 and 2, group 1 and 3, group 1 and 4 differences were found important ($p < 0,05$), in spite of this, differences among other groups were found insignificant (2 and 3, 2 and 4, 3 and 4)

In our study, when it was investigated the relationship between antimicrobial cationic peptides and disease it was figure out that these peptides increases on breast cancer. Besides, α defensins other peptides were also increased among diabetes patients. Although many studies Show that these antimicrobial peptides could be an tumor indicator, our study results point out that also diabetes presence should have investigated. Otherwise false positive result may cause erroneous diagnosis and treatment. On the other hand if α defensins levels decrease among the patients, who have diabetes, it can affect immune system in a bad way. And as a result of this, probability to get an infection may increase.

Keyword: Breast Cancer, Tip2 diabetes, Antimicrobial cationic peptides, HNP-3, HNP-4, LL-37, HBD-1, HBD-3, Vitamin D

TEŞEKKÜR

Tez alıőması boyunca değerli bilgi ve tecrübeleriyle alıőmalarımın her aőamasında bana yol gösteren danışman hocam sayın Do. Dr. V. Kenan ÇELİK' e yoğun çalıőmalarım sũresince bilgi ve emeğini esirgemeyen Biyokimya Anabilim Dalı'nın tũm đretim ũyelerine ayrıca istatistiksel analizlerim sırasında bana yol gösteren değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a tũm içtenliğimle teőekkũr ederim.

Bu alıőma sũresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen DEğERLİ AİLEME sonsuz teőekkũrlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	i
ONAY	ii
YÖNERGE	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1.GİRİŞ	1
1.1.Meme Kanseri	1
1.2.Amaç	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1.Meme kanserinin Etiyoloji	2
2.1.1.Reprodüktif öykü.....	2
2.1.2.Ailesel/genetik risk faktörleri.....	2
2.1.3. Çevresel faktörler	3
2.1.3.1.Sosyoekonomik düzey	3
2.1.3.2.Radyasyona maruz kalma	3
2.1.3.3.Alkol kullanımı	3
2.1.3.4.Egzersiz.....	3
2.1.3.5.Beslenme alışkanlığı	4
2.1.3.6.Hormonal Faktörler.....	4
2.1.3.7.Vücut Kitle İndeksi (VKİ)	4
2.2 Diabetes Mellitus	5
2.2.1.Tip-I Diyabet	5
2.2.2.Tip-II Diyabet	5
2.2.3.Tip-III Diyabet.....	6
2.3.Tip-II Diyabet ve Meme Kanseri	6
2.4. Antimikrobiyal Etkili Katyonik Peptitler	6
2.4.1.Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin sentezlenmesi.....	8
2.4.2.Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin yapısal özellikleri.....	9
2.4.3.Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin sekonder yapıları.....	10

2.4.3.1 β -şeridi içeren peptitler 3.Antimikrobik etkili kationik peptitlerin yapısal özellikleri	10
2.4.3.1.2. α -helezonal peptitler	10
2.4.3.1.3. Uzun zincirli peptitler	11
2.4.3.1.4. Halka yapısındaki peptitler	11
2.4.4. Antimikrobik etkili kationik peptitlerin etki mekanizmaları.....	11
2.4.4.1.Fıçı tahtası modeli	14
2.4.4.2.Kilim modeli	15
2.4.4.3.Miçel agregat modeli	15
2.4.4.4.Toroidal model	15
2.5. Antimikrobiyal Etkili Kationik Peptitlerin Kanser Hücreleri Üzerindeki Rollerini	16
2.5.1.Kanser Hücresi Dış Membranında Bulunan Anyonik Fosfotidilserin.....	18
2.5.2 Kanser Hücre Yüzeyindeki Sialik Asit Kalıntılarının Artışı	19
2.5.3. Heparin Sülfat	19
2.5.4. Mikrovililer	19
2.5.5. Nekroz veya Apoptoz Yollarının Tetiklenmesi.....	20
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	22
3.1.Gereç	22
3.1.1.Kullanılan Gereçler	22
3.2.Yöntem	22
3.2.1.Hasta ve Kontrol Grubu	22
3.2.2.Kan Örneklerinin Toplanması	22
3.2.3.Serumda Human Neutrophil peptide 4 (HNP-4) Tayini.....	22
3.2.4.Serumda Human Neutrophil peptide 3 (HNP-3)Tayini.....	23
3.2.5.Serumda Human Cathelicidin Antimikrobiyal Peptide (cAMP/LL37) Tayini.....	24
3.2.6.Serumda Human Beta-defensin 1 (HBD-1/DEFB1) Tayini	24
3.2.7.Serumda Human Beta-defensin 3 (HBD-3/DEFB3) Tayini.....	25
3.2.8.Serumda D Vitamini tayini için hizmet alımı yapıldı.....	26
4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ	27
5.BULGULAR	28
5.1.HNP-3 düzeyi ortalamaları	30
5.2.HNP-4 düzeyi ortalamaları.....	31
5.3.LL-37 düzeyi ortalamaları.....	31
5.4.HBD-1 düzeyi ortalamaları.....	32
5.5.HBD-3 düzeyi ortalamaları.....	33
5.6.Antimikrobiyal etkili kationik peptitler gruplara göre kıyaslanması.....	33
5.7.Vitamin D ortalamaları.....	35
5.8.HbA _{1C} ortalamaları.....	35
6.TARTIŞMA VE SONUÇ	36

7.KAYNAKLAR	40
ÖZGEÇMİŞ	49
EKLER	50
EK-1. Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu	50
EK-2. Bilgilendirilmiş Olur Formu.....	53

ŞEKİLLER ve TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin sekonder yapıları.....	10
Şekil 2. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin bakteri dış ve sitoplazma membranından geçişi	12
Şekil 3. Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin başlıca önemli geçiş mekanizmaları.....	14
Şekil 4. Membranla ilgili kanser hücrelerinin spesifik özelliklerinin taslağı ve genetik değişiklikler.....	17
Şekil 5. Human Neutrophil peptide 4 standart eğri grafiğı.....	22
Şekil 6. Human Neutrophil peptide 3 standart eğri grafiğı	22
Şekil 7. Human Cathelicidin Antimikrobiyal Peptide standart eğri grafiğı	23
Şekil 8. Human Human Beta-defensin 1 standart eğri grafiğı	24
Şekil 9. Human Human Beta-defensin 3 standart eğri grafiğı.....	24
Şekil 10. Antimikrobiyal Katyonik Peptitlerin Gruplar Arasındaki Konsantrasyonları.....	29
Şekil 11. Serum HNP-3 ortalamaları	29
Şekil 12. Serum HNP-4 ortalamaları	30
Şekil 13. Serum LL-37 ortalamaları	30
Şekil 14. Serum HBD-1 ortalamaları	31
Şekil 15. Serum HBD-3 ortalamaları	31
Tablo 1. HNP-3 Antimikrobiyal Peptitinin Gruplara Göre Kıyaslanması.....	32
Tablo 2. HNP-4 Antimikrobiyal Peptitinin Gruplara Göre Kıyaslanması.....	32
Tablo 3. LL-37 Antimikrobiyal Peptitinin Gruplara Göre Kıyaslanması.....	33
Tablo 4. HBD-1 Antimikrobiyal Peptitinin Gruplara Göre Kıyaslanması.....	33
Tablo 5. HBD-3 Antimikrobiyal Peptitinin Gruplara Göre Kıyaslanması.....	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.Kontrol ve Hasta Gruplarının Cinsiyetine Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi	27
Çizelge 2.Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaşına Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi	27
Çizelge 3.Ölçülen Parametrelerin AMKP'ler açısından Hasta ve Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi	28
Çizelge 4.Ölçülen Parametrelerin D vitamini ve HbA _{1c} açısından Hasta ve Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi	39

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Bileşik Devletleri
ACS	Amerikan kanser topluluğu
AMKP	Antimikrobiyal katyonik peptitler
BPI	Bakterisidal permeabilite artırıcı protein
DHEA	Dehidroepiandrosteron
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribonükleik asit
HBD-1/DEFB1	Human Beta-defensin 1
HBD-3/DEFB3	Human Beta-defensin 3
hCAP18/LL-37	Cathelicidin antimicrobial peptide
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HNP-3	Human Neutrophil peptide 3
HNP-4	Human Neutrophil peptide 4
LL-37	Cathelicidin antimicrobial peptide
LPS	Lipopolisakkarit
MHC	Majör histokompatibilite kompleks
MSI-78	Peksiganan
NIDDM	İnsüline bağımlı olmayan diyabet
NK	Doğal öldürücü hücre
PR 39	Prolin zengin antimikrobiyal peptit
PS	Fosfotidilserin
Tip2 DM	Tip 2 diyabet

1.GİRİŞ

1.1.Meme Kanseri

Meme kanseri, kadınlar arasında en yaygın görülen kanser türü olup, kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Avrupa'da yılda 180.000 Amerika Birleşik Devletleri'nde yıllık meme kanseri teşhisi konulmuş kişi sayısı yaklaşık olarak 182.000'dir buda kadınlar arasında tüm kanser türlerinin yaklaşık % 26'sını oluşturmaktadır.[1]

Küresel kanser istatistiklerinin (GLOBOCAN) verilerine göre 2012 yılında dünya çapında 14,1 milyon meme kanseri olgusuna rastlanmış ve 8,2 milyon kişinin kansere bağlı ölümü rapor edilmiştir. Buda kadınlar arasındaki kanser ölümlerinin % 13,7 sini ve kadınlarla erkeklerin oluşturduğu tüm kanser ölümlerinin %6'sını oluşturmaktadır.[2] Yaşla birlikte meme kanseri insidansı artmaktadır ve gelişiminde doğurulan çocuk sayısı, beslenme alışkanlığı, genetik faktörler, çevresel etkenler, hormonal ve fizyolojik faktörlerin neden olduğu düşünülmektedir. [3,4]

Diabetes Mellitus birçok kanser tipinde artan risk ile ilişkilendirilmektedir, meme kanseri ile diabetes mellitus arasında ilişki ise yapılan çalışmalarla açık bir şekilde ortaya konulmaya çalışılmaktadır.[45]

Hiperinsülinemia, östrogen, testosteron ve insülin bağlı büyüme faktörlerinin konsantrasyonu indirekt veya meme dokusuna direkt etki ederek meme kanseri riskini artırabildiği düşünülmektedir[46]. Tip 2 diyabet insilün direnci ve hastalık başlangıcından hem önce hem sonra uzun süre artan pankreatik insilün sekrosyonu ile ilişkilendirilmiş ve insülinin meme dokusu üzerinde mitogenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir[49,50]. Ayrıca, insülin reseptörlerinin meme kanseri hücrelerinde aşırı bir şekilde üretildikleri de saptanmıştır[51,52]. Bu nedenlerden dolayı tip-2 diyabetin meme kanseri riskini arttırabileceği düşünülmektedir.

1.2. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada, Tip-2 diyabeti olan ve olmayan meme kanserin de ve yalnızca tip-2 diyabetli bireylerin serumlarında antimikrobiyal etkili katyonik peptidlerin (HNP-3, HNP-4, LL-37, HBD-1, HBD-3) ve D vitaminin düzeyleri ölçülmüştür. Çalışmamız meme kanseri ve Tip2 diyabette bu parametrelerin düzeylerinin saptanarak kontrol grubuna ve birbirlerine göre farklılıklarının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanserinin Etiyolojisi

2.1.1. Reprodüktif öykü

Östrojen alt tiplerinin (östradiol, östriol, östron) modülasyonu over fonksiyonları ile sağlanır (menarş, gebelik ve menapoz). Menapozdan sonra ise östrojenin ana kaynağı adrenal bezlerden salgılanan dehidroepiandrosteron'dur (DHEA) ve periferik yağ dokusunda metabolize edilerek östradiol ve östrona dönüşür. Östrojen hormonuna maruz kalınan sürede artış olması, meme kanseri gelişme riskinde artışla ilişkilendirilmiştir. Östrojene maruz kalınan sürenin azalmasının ise koruyucu bir etkiye neden olacağı düşünülmektedir [5,6]. Tam dönem gebelikle ilişkili olan meme epitelinin terminal diferansiasyonu da koruyucudur, dolayısıyla ilk canlı doğumun daha ileri yaşta yapılması ve hiç doğum yapmamış olmak meme kanseri riskinde artışla ilişkilendirilmiştir. Nulliparite meme kanseri rölatif riskinde 1.2-1.7 artışa neden olur[7].

İnfertilitenin meme kanseri riskini azalttığı bildirilmiştir fakat infertilite tedavisinin meme kanseri riskini ne yönde etkilediği çelişkilidir[8,9].

İndüklenmiş veya spontan düşük yapmanın meme kanseri ile bir ilişkisi olup olmadığı gösterilememiştir[10,11]. Ayrıca Laktasyon meme kanseri riskini azalttığı belirtilmiştir[12,13].

2.1.2. Ailesel/genetik risk faktörleri:

Aile öyküsü varlığı meme kanseri açısından önemli bir risk faktörüdür. Bir adet birinci derece akrabada meme kanseri olması, meme kanseri riskini 1.80 kat artırır. İki tane birinci derece akraba varlığında ise bu risk 2,9 kat artar. Meme kanserine yakalanmış olan akraba 30 yaşından önce tanı almış ise risk 2,9 kat, 60 yaşından sonra tanı konmuş ise risk 1,5 kat artar [14].

Meme kanseri olgularının %5-10'unun genetik olduğu bilinmektedir [15,16]. Kalıtsal meme kanseri ile ilişkili çeşitli genler saptanmıştır. Bu genler içinde en önemlileri BRCA1 (17q12-21), BRCA2 (13q14), TP53 ve PTEN genleridir. Ailevi meme kanseri olgularının çoğunda BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları saptanmıştır. TP53 ve PTEN mutasyonları ise ailevi meme kanseri olgularının %1'inden daha az kısmından sorumludur[17].

2.1.3. Çevresel faktörler

2.1.3.1.Sosyoekonomik düzey

Yüksek sosyoekonomik düzey meme kanseri gelişimi açısından 2 kat artmış riski ifade eder. Ancak bu durum bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmez; reproduktif alışkanlıklardaki değişiklik nedeniyle ortaya çıktığı düşünülür[18].

2.1.3.2. Radyasyona maruz kalma

Özellikle 10-14 yaş arasında, memenin aktif olarak geliştiği dönemde, radyasyona maruz kalma meme kanseri riskini artırmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde meme kanseri olgularının yaklaşık %1'inin tanı amaçlı mamografiye bağlı geliştiği düşünülmektedir[19]. 45 yaşından sonra radyasyona maruz kalma veya radyoterapi meme kanseri riskini etkilememektedir[20].

Tanısal amaçla yapılan işlemlere bağlı olarak oluşan radyasyona maruziyetin ise meme kanseri riski ile ilişkisi tartışmalıdır. Genetik geçiş riski olanlar dışında bu risk yok veya dikkate alınmayacak kadar düşük olarak kabul edilir [21,22].

2.1.3.3. Alkol kullanımı

Çalışmalarda alkol tüketiminin miktarı ve süresinin de meme kanseri riskini arttırdığını göstermektedir[23]. Alkol tüketiminin östradiol serum düzeylerini yükselttiği bilinmektedir. Birçok çalışmada orta düzeyde alkol alımının (her gün 1-2 kadeh) meme kanseri riskinde %30-50 oranında artışa neden olduğu bildirilmiştir[24]. Geçmişte yapılan bir toplum-bazlı çalışmada artmış alkol alımının östrojen reseptör pozitif meme kanseri gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir[25].

2.1.3.4.Egzersiz

Fiziksel aktivitede artış özellikle premenopozal kadınlarda meme kanseri riskinde azalma ile ilişkilendirilmiştir[26-27]. Bu konu çok tartışmalı olmakla birlikte düzenli egzersiz yapılmasının anovulatuvar siklusların sayısını artırarak meme kanseri riskini azalttığı düşünülmektedir[26].

2.1.3.4. Beslenme alışkanlığı

Yağ içeriği yüksek yiyeceklerin uzun süreli tüketiminin de serum östrojen düzeylerini yükselterek meme kanseri riskinde artışa katkıda bulunduğu dair bazı kanıtlar vardır. Ancak bu konuyla ilgili çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Haftada 5 kez kırmızı et yenilmesi ile meme kanseri riskinde artış olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir[28,29].

Son yıllardaki epidemiyolojik çalışmalar, vitamin D'nin meme kanserine karşı koruyucu bir rolü olabileceğini ortaya koymuştur[30,31].

Sigara ile meme kanseri arasındaki ilişki de çelişkilidir. Çalışmalarda çok değişik sonuçlar elde edilmekle birlikte, eşlik eden bazı diğer faktörlerle birlikte riski artırdığı düşünülmektedir[32,33].

2.1.3.5. Hormonal Faktörler

Meme kanseri gelişiminde risk faktörlerinden birisi de hormonal faktörlerdir. İntrauterin (rahim içi) hayat dahil olmak üzere kadının uzun süre östrojen gibi üreme hormonlarına maruz kalması meme kanseri insidansını arttırmaktadır[35]. Doğurganlık sayısının yüksekliği, menarşın ileri yaşta başlaması ve menopoz meme kanseri riskini azaltmaktadır[35].

İlk doğum yaşı ile meme kanseri oluşma riski arasında da ilişki gözlenmiştir. Örneğin ilk canlı doğumunu 30 yaşından sonra yapmış bir kadında meme kanseri oluşma riski, ilk doğumunu 18 yaş ve öncesinde yapmış bir kadına göre 2-5 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir[36]. Postmenopozal dönemde hormon tedavisi kullananlarda meme kanseri riski kullanmayanlara göre artmaktadır. Özellikle ailede meme kanseri öyküsü olan kadınlarda oral kontraseptif kullanımı, meme kanseri oluşumu için risk faktörüdür[37].

2.1.3.6. Vücut Kitle İndeksi (VKİ)

Aşırı kilolu veya obez kadınlarda postmenopozal meme kanseri daha sık görülmektedir[26]. Tüm dünyada meme kanseri vakalarının %25'inin aşırı kilo, obezite ve sedanter hayat tarzına bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca postmenopozal obez kadınlarda seks-hormonu bağlayıcı globulin oranı daha düşüktür ve bunun sonucunda dokularda estrone(E1) oranı daha yüksektir. Yine, hiperinsülinemi ve yüksek düzeyde insulin-like growth factor-1 salınımı olan kişilerde, overlerde androjen üretimi artar ve bunun sonucunda yağ dokularında aromatzasyon ile östrojen düzeyi artabilir[34].

2.2 Diabetes Mellitus (DM)

Diabetes mellitus, insülin eksikliği, insülinin yetersizliği veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan, özellikle hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, lipid ve protein metabolizması bozuklukları ile seyreden yaşam boyu süren metabolik bir hastalıktır[38].

Tip 2 diyabet en sık görülen diyabet tipi olup sıklığı %85-90 civarındadır. Dünya çapında 151 milyon kişi diyabet tanısı almıştır ve bu oranın 2025 yılında 324 milyona yaklaşacağı tahmin edilmektedir[39]. DM prevalansı gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık olarak %2,5 gelişmesini tamamlamış ülkelerde %5 ile %10 arasındadır, ülkemizde ise bu oranın %7,2 olduğu bildirilmektedir[40,41]. Sıklığı yaşla birlikte artar, 65 yaş üstü sıklığı %25'e kadar ulaşır[42]. Ayrıca her geçen gün diyabete bağlı hastalık ve ölüm oranı da artmaktadır. ABD'de ölüm nedenleri arasında üçüncü sıradadır[43].

Diabetes Mellitus klinik açıdan tip I, tip II ve tip-III diyabet olarak sınıflandırılabilir.

2.2.1. Tip-1 diyabet

Tüm diyabet hastalarının %5-10'unu oluşturan tip I DM; insülin yetmezliği, bazal durumda dahi ketoasidoza yatkınlık ve yaşamı devam ettirebilmek için mutlak insülin bağımlılığı ile ortaya çıkmaktadır. Tip I DM; Genellikle otoimmün kaynaklı olarak gelişmekte olan hastalığın, genellikle çocukluk çağı ve genç erişkin yaşlarda ortaya çıktığı bilinmektedir. Hastalarda çoğunlukla (% 60- 90) pankreatik adacık hücrelerine ve farklı karakterdeki MHC antigenlerine karşı autoantikörler ve otoimmün destrüksiyon meydana gelir[39,40].

2.2.2. Tip-2 Diyabet

Tip 2 diyabet önceki adıyla insüline bağımlı olmayan diyabet veya erişkin dönemde ortaya çıkan diyabet, insülin direnci ve buna bağlı insülin eksikliği bağlamında hiperglisemi ile karakterize edilen bir metabolik hastalıktır[44].

Klasik semptomlar arasında aşırı susama, sık idrara çıkma ve kişinin kendisini sürekli aç hissetmesi bulunmaktadır. Diyabetli hastaların %90'ı tip II diyabetten oluşurken tip-1 diyabet ile tip-3 diyabet, yaklaşık %9-10'unu oluşturmaktadır[44].

2.2.3. Tip-3 Diyabet

Bu iki ana grup dışında tip III diyabet olarak adlandırılan ikincil diyabet; pankreatik, hormonal veya genetik faktörlere veya alınan çeşitli ilaç veya kimyasallara bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Gestasyonel diyabet gebelik boyunca anormal glikoz tolerans testi ile karakterizedir ve postpartum dönemde normale dönebilir veya anormal kalabilir[40].

2.3. Tip-2 Diyabet ve Meme Kanseri

Diabetes Mellitus birçok kanser tipinde artan risk ile ilişkilendirilmektedir, meme kanseri ile diabetes mellitus arasında ilişki ise yapılan çalışmalarla açık bir şekilde ortaya konulmaya çalışılmaktadır; Tüm diyabet tanısı konulmuş vakaların %90-95 ' ini Tip-2 diyabet oluşturmaktadır ve insülin direnci ve hastalığın ilk fazlarında hiperinsilünemia karakterize edilmiştir[45].

Hiperinsilünemia, östrogen, testosteron ve insülin bağlı büyüme faktörlerin konsantrasyonu indirekt veya meme dokusuna direkt etki ederek meme kanseri riskini artırabildiği düşünülmektedir[46]. Tip 2 diyabet insilün direnci ve hastalık başlangıcından hem önce hem sonra uzun süre artan pankreatik insilün sekresyonu ile ilişkilendirilmiş ve insülinin meme dokusu üzerinde mitogenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir[49,50]. Ayrıca, insülin reseptörlerinin meme kanseri hücrelerinde aşırı bir şekilde üretildikleri de saptanmıştır[51,52]. Bu nedenlerden dolayı tip-2 diyabetin meme kanseri riskini arttırabileceği düşünülmektedir.

Yapılan bir meta analizde diabetes mellitus (çoğunlukla tip 2 diyabet) ve meme kanseri riski arasında pozitif ilişki olduğu belirtilmiştir.[48]. Çalışmanın sonucunda diyabetli kadınlarda meme kanseri riskinin %20 oranında arttığı saptanmıştır. Diyabet ve meme kanseri arasındaki ilişki kuzey Amerika, Avrupa ve Asya kıtalarında yapılan case-control and cohort (grup) çalışmalar ile desteklenmektedir[48].

2.4. Antimikrobiyal Etkili Katyonik Peptitler

Günümüzde, kliniklerde yoğun olarak kullanılan antibiyotiklere karşı bakterilerin de yüksek oranda direnç geliştirdiği bilinmektedir. İlk antibiyotik olan penisilinin klinik olarak kullanımından kısa bir müddet sonra penisiline karşı bir direnç geliştiği belirlenmiştir. Geçen zamanda diğer antibiyotikler de benzer bir durumla karşılaşmış ve bu günlerde antibiyotiğe karşı gelişen direnç hayati bir sorun olarak ortaya çıkmıştır. Bu nedenden dolayı araştırmacılar antimikrobik etkili yeni kaynakların arayışına

yönelmişlerdir. Bunların arasında en fazla öne çıkan grup, canlıların çevrelerini kuşatan mikroorganizmalara karşı savunmalarında doğal bağışıklığın önemli bileşenlerinden olan antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerdir.

Antimikrobiyal Etkili Katyonik Peptitler doğuştan gelen immün yanıtın bir parçasını oluşturmaktadır. Bu peptitler mikroorganizmalar, amfibiyanlar, sürüngenler, böcekler, kuşlar, bitkiler, çeşitli memeli hayvanlar ve insanlar gibi her türlü canlıdan izole edilebilmektedirler. Kurbağalardan izole edilen bazı maddeler, yüzyıllarca tedavi amacıyla kullanılan çeşitli ilaçların bileşimine girmiştir; öyle ki kullanımı bazı Güney Amerika ülkelerinde hala devam etmektedir. Bazı önemli peptitler ;

- ❖ Bombinin
- ❖ Mellitin
- ❖ Secropin
- ❖ Magainin
- ❖ Nisin
- ❖ Peksiganan (MSI-78)
- ❖ Defensinler

1962’de *Bombina variegata* adlı bir kurbağanın yüzey salgılarından, antimikrobik ve hemolitik aktivite gösteren ve daha sonra 24 aminoasitlik bir peptit olduğu belirlenerek “bombinin” şeklinde adlandırılan madde izole edilmiştir[53].

1972’de *Apis mellifera* adlı balasının venomundan antimikrobik ve hemolitik aktivitelere sahip bir peptit olan “mellitin” izole edilmiştir[53].

1981’de *Hyolophora cecropia* adında bir çeşit ipek böceğinin hemolenflerinden “sekropin”ler denilen bir grup katyonik peptit izole edilmiştir[53]. Secropinler küçük peptit olup yaklaşık 33 aminoasitten oluşmakta ve aynı zamanda bakterilerde prolin artışını engelleyerek zayıf hücre zarı oluşmasına neden olmaktadır. 1987’de ise *Xenopus laevis* adlı yaralı bir Güney Afrika kara kurbağasının derisinden “magainin”ler izole edilmiştir.

Nisin yapısında 34 adet aminoasit bulunmaktadır. Bu aminoasitlerden 8 tanesi kükürt içerir ve en önemlisi lantionin ve 3-metil lantionin’dir. Zira lantibiyotik terimi içerdiği bu aminoasitten türetilmiştir. Bunların yanısıra dehidroalanin ve dehidrobutirin gibi diğer aminoasit kalıntılarını içermektedir. Nisin, yapısındaki 27. aminoasidin

türüne göre ikiye ayrılır. Eğer 27. aminoasit aspartik asit ise Nisin A, histidin ise Nisin Z olarak adlandırılır.

Antimikrobiyal peptitler arasında insanlardan izole edilenler defensinler, kathelisinler (HCAP-18 / LL-37), histatinlerdir [139]. Memelilerde en önemli antimikrobiyal peptit grubu defensinlerdir. Defensinler, omurgalıların ve omurgasızların her ikisinde de bulunan küçük, sisteince zengin katyonik peptitlerdir. 6 ila 8 sistein kalıntısını saklayan 15-20 aminoasitten meydana gelmişlerdir [140]. Sistein kalıntıları ve disülfid bağlarının yerleşimine göre α , β ve teta (θ) defensinler olmak üzere üç alt gruba ayrılırlar. α ve β defensinler insanlardan izole edilmiştir. θ -defensinler sadece rhesus maymunlarında tanımlanmıştır. Teta defensinler insanlarda tanımlanmamıştır [140]. Bağışıklık sisteminin hücreleri (örn; nötrofiller ve hemen hemen bütün epiteliyal hücreler) mikrobiyal fagosite etmesini sağlayan bu peptitleri sentezlemektedirler. Çoğu defensinin işleyişi, elektriksel çekim yoluyla mikrobiyalın hücre zarını delip-geçerek açılan geçiş yolundan hücre içeriğini dışarıya akıtma suretiyle meydana gelmektedir[54].

2.4.1. Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin sentezlenmesi

İmmün sistemin enfeksiyon etkenine karşı spesifik immün yanıtın oluşturmaya kadar geçen süre içinde mikroorganizmaları etkisiz hale getirebilecek en etkili silahlardan biri olan katyonik peptitler özellikle epitel hücreleri, nötrofiller ve fagositik hücreler tarafından düşük enerjiyle hızlı bir şekilde sentezlenmekte ve kolaylıkla büyük miktarlarda saklanmaktadır. Enfeksiyondan kısa bir süre sonra yüksek miktarlara ulaşan bu peptitler birçok mikroorganizmanın üremesini hızla bir şekilde durdurmaktadır[55,56]. Ayrıca antimikrobiyal etkili katyonik peptitler birbirleri ile ya da lizozim, laktoferrin gibi konağa ait diğer doğal savunma faktörleriyle ve çeşitli antibiyotiklerle de aynı yönlü etki oluşturabilirler[57,58].

Antimikrobik etkili katyonik peptitler homolog bir aileye ait genler tarafından, her peptit için bir gen olacak şekilde kodlanmaktadır. Kromozomlar üzerinde lokalize olarak bulunan bu gen ailesi, eksprese oldukları dokular ve üretilebilirliklerine göre farklı alt sınıflardan meydana gelmektedir. Örneğin insanlarda α ve β defensinlerin lokalize oldukları defensin lokusu 8p21-23'üncü kromozomda bulunmaktadır. α ve β defensinlerin üretilmesi için gereken genler her grup için yüksek oranda dizi benzerliği göstermesine rağmen birbirlerinden oldukça farklıdır[59,60].

Genlerde kodlanmış olan AMKP'lerin ilk translasyon ürünleri prepropeptitlerdir. Bu prepropeptitler endoplazmik retikulumu hedef alan bir N-terminal sinyal dizisi, bir prosegment ve antimikrobik aktivite gösteren kısım olan bir C-terminal katyonik peptit olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Anyonik yüklü olan prosegmentin biyolojik fonksiyonları, C-terminalinin doğru bir şekilde katlanmasını, hücreler arası geçişin düzenlenmesini ve olgun peptitlerin aktivitelerinin inhibe edilmesini sağlamaktadır. Propeptitler hücre içindeki sürecin ileri safhalarında ya da hücre dışına salgılandıktan sonra parçalanmaktadır. AMKP'ler genellikle ya propeptit ya da olgun C-terminal peptit şeklinde depo edilirler[59,60].

2.4.2. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin yapısal özellikleri

Geçtiğimiz yıllarda bir çok peptit yapısında antibiyotik tanımlanmış ve bunlar genel olarak iki ana sınıfa ayrılmıştır. İlk grupta non-ribozomal olarak sentezlenen polimiksinler, gramisidinler, basitrasinler ve glikopeptitler gibi antibiyotikler yer almaktadır. Bunlar genellikle mikroorganizmalar tarafından bol miktarda üretilmekte, bazen de bu peptitlerin modifiye edilmesiyle ortaya çıkarılan bileşenlerdir. İkinci grupta ise ribozomal olarak sentezlenen ve doğuştan gelen bağışıklığın peptitleri olarak da adlandırılan antimikrobik etkili katyonik peptitler(AMKP) yer almaktadır. Bunlar bakterilerden insanlara kadar tüm canlılar tarafından sentezlenerek doğal bağışıklık sisteminin en önemli aşamalarından birini oluşturan doğal peptitlerdir[53].

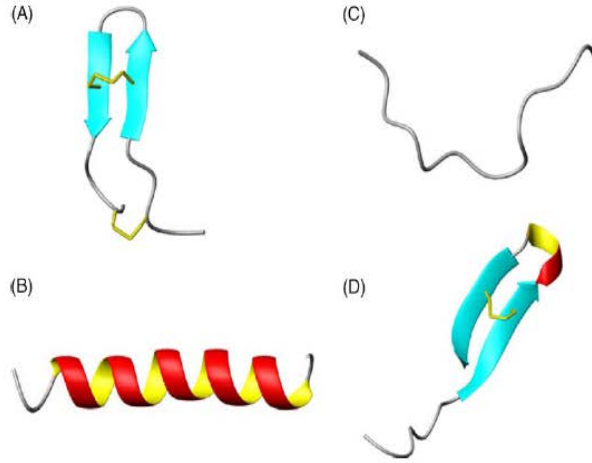
Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin yapıları primer ve sekonder olmak üzere iki ana başlıkta incelenebilir. AMKP'lerin primer yapısı genellikle 12 – 50 aminoasit uzunluğunda olup, yaklaşık % 50 oranında hidrofobik aminoasit içeren ve sahip oldukları lizin ve arjinin aminoasitlerinden dolayı pozitif yüklü bir yapıdadır. Bu pozitif yük genellikle +2 değerindedir fakat nadirde olsa +4, +6 ya da +7 de olabilmektedir. Katyonik peptitlerin sekonder yapısı ise içerdikleri disülfid bağları aracılığıyla ya da mikrobiyal membranına temas etmeleri sonucunda kendi üzerlerine katlanarak üç boyutlu amfipatik yapıların oluşması suretiyle meydana gelir. Bu yapılar hem polar pozitif yüklü aminoasitlerden oluşan bir hidrofilik kısım, hem de non-polar nötral aminoasit yan zincirlerini içeren bir hidrofobik kısımdan oluşmaktadır. Katyonik peptitler bu yapıları ile hidrofobik bir iç kısım ve negatif yüklü hidrofilik dış grupları

bulunan bakteri membranıyla çok iyi ilişki kurabilmektedir[61,64]. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin sekonder yapıları aşağıda belirtildiği gibi dört gruba ayrılmaktadır.

2.4.3. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin sekonder yapıları

2.4.3.1. β -şeridi içeren peptitler

Bu gruptaki AMKP'lerin yapısal özellikleri, 16 ile 40 aminoasit uzunluğunda olup sistein aminoasit açısından zengin olmaları ve yapılarında β -şeridi içermeleridir. İçerdikleri β -şeritleri birbirine iki ya da daha fazla disülfid köprüsü ile bağlanmış antiparalel 'Bkz.şekil.1A' bir yapıda bulunmaktadır. β -şeridi içeren bazı büyük peptitler bu yapıya ilave olarak bazen küçük bir helezonal kısım da içerebilirler[65,66]. Bu gruptaki peptitler arasında α ve β defensinler, protegrinler ve takiplesinler gösterilebilir[54].



Sekil 1. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin sekonder yapıları.

A: β -şeridi içeren peptit (Human β -defensin 2), B: Amfipatik α -helezonal peptit (Magainin 2), C: Uzun zincirli peptit (indolisidin), D: Halka yapısındaki peptit (Tanatin)

2.4.3.1.2. α -helezonal peptitler

Bu gruptaki peptitlerin ayırt edici özellikleri, 20-40 aminoasit uzunluğunda olup sistein içermeksizin lineer ya da α -helezonal yapıda olmaları ve genellikle molekülün merkezinde zayıf bir kıvrım 'Bkz.şekil.1B' oluşturmalarıdır. Mellitin, magaininler, sekropinler, katelisidinler, buforin II, LL-37 ve farklı canlılardan izole edilmiş miyeloid antimikrobik etkili peptitler olan PMAP (domuzdan), SMAP (koyundan) ve BMAP (sığırdan) önemli α -helezonal peptitler den birkaçıdır [54, 65, 66].

2.4.3.1.3. Uzun zincirli peptitler

Bu grupta bulunan peptitlerin ayırt edici özellikleri, 40 - 80 aminoasit uzunluğunda olup yüksek oranda pirolin ya da glisin içermeleridir. Klasik sekonder yapılardan yoksun olan bu peptitler son şekillerini 'Bkz.şekil.1C' aminoasitler arasındaki bağlar yerine hidrojen ya da Van der Waals bağlarıyla membran lipitleriyle aralarında gerçekleşen etkileşim sonucu alırlar[27,56]. İndolisidin, PR 39 ve profeninler uzun zincirli peptitler arasında bulunmaktadır[65].

Yukarıda bahsedilen AMKP'lerin sekonder yapıları arasında doğada en yaygın bulunanlar β -şeridi ve α -helezon içeren peptitlerdir[54,65].

2.4.3.1.4.Halka yapısındaki peptitler

Bu gruptaki AMKP'lerin en ayırt edici özelliği yapılarında tek bir disülfit, amid ya da izopeptit bağı ile meydana gelmiş 'Bkz.şekil.1D' bir halka içermeleridir. Baktenesin ve tanatin gibi peptitler halka yapısındaki peptit grubundadırlar [54,66].

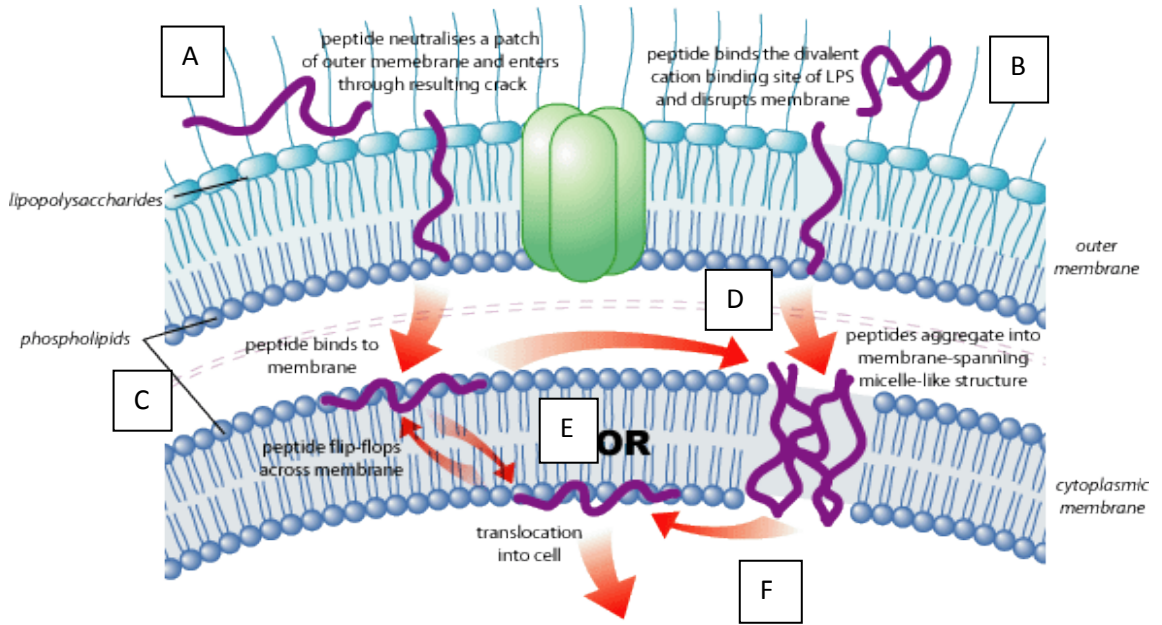
2.4.4. Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin etki mekanizmaları

Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerinin hidrofobik ve pozitif yüklü olması bu maddelerin mikrobiyal membranıyla etkileşime girmeleri için çok önemlidir. AMKP'lerin birçoğu bu özelliklerinden dolayı herhangi bir reseptöre ihtiyaç duymadan direkt olarak negatif yüklü olan bakteri membran yüzeyine bağlanarak aktivitesini gösterir. Gram negatif bakterilerin dış membranında bulunan lipopolisakkarit (LPS) tabakası ve Gram pozitif bakterilerde bulunan lipoteikoik asit, AMKP'lerin bağlanabilmesi için gerekli olan negatif yükü bulundururlar. Bunun yanı sıra bakterilerin fosfolipit yapısındaki iç membranının da negatif yüklü oluşu antimikrobiyal etkiyi güçlendirmektedir[67,68].

Memelilerde bulunan ökaryot hücrelerin dış membranı, bakteri hücresinden farklı olarak fosfatidilkolin ve sfingomiyelin gibi elektriksel olarak nötral, zwitteriyonik fosfolipitlerden meydana gelmiştir. Ayrıca memeli hücrelerinde kolesterol bulunurken bakterilerin dış membranında kolesterole rastlanmamaktadır. Bu farklılıklar, AMKP'lerin insan hücreleri üzerinde toksik etkileri olmadan bakteriler üzerindeki seçici ve öldürücü etkilerini açıklamaktadır[69,70].

Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, birçok antimikrobiyal etkili katyonik peptit bakteriler üzerindeki öldürücü etkilerini yapılarına, hidrofobikliklerine, büyüklüklerine

veya aminoasitlerinin dizilişlerine bağlı olmaksızın küçük miktarda dahi gerçekleştirebilmektedirler. Bu etki tüm AMKP'lerin benzer bir mekanizma ile fosfolipit yapısındaki negatif yüklü sitoplazma membranına bağlanması ve bakteriyeye nüfuz etmesi sonucunda meydana gelmektedir. Bu etkileşimin sonucunda bakteri hücresinin membranının da, hücre içi ile dış ortam arasında iyonlar ve sıvılar için bir geçiş yolu meydana gelir. AMKP'lerin sitoplazma membranına ulaşabilmesi için öncelikle Gram negatif bakterilerin LPS içeren veya Gram pozitif bakterilerin lipoteikoik asit içeren dış membranını geçmeleri gerekecektir[69,71].



Sekil 2. Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin bakteri dış ve sitoplazma membranın'dan geçişi

A: AMKP'lerin LPS'deki iki değerli katyonlarla yer değiştirerek dış membrandan geçişleri,

B: AMKP'lerin LPS'deki katyon bağlayıcı noktalara bağlanarak dış membrandan geçişleri,

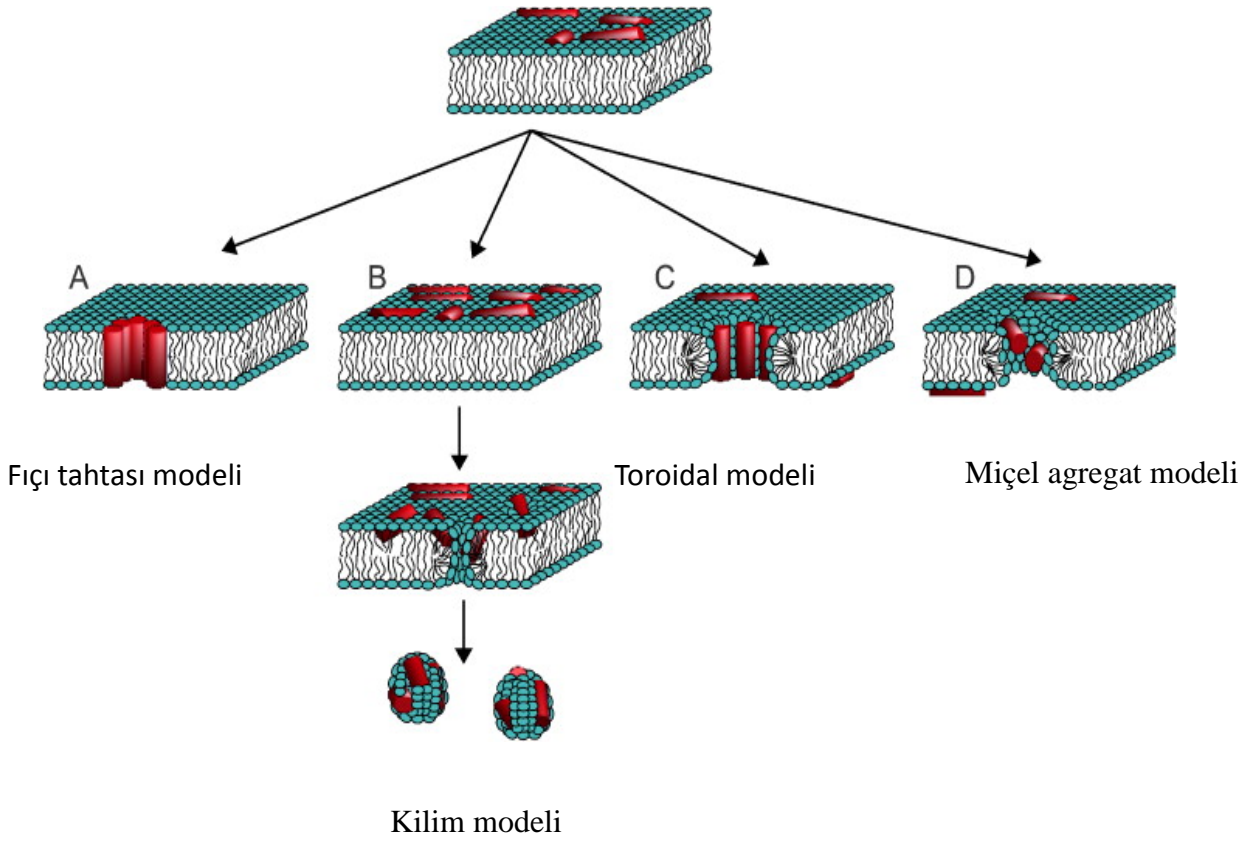
C: AMKP'lerin sitoplazma membranına paralel olarak bağlanması,

D: AMKP'lerin membranda birikerek agregatlar oluşturması,

E: AMKP'lerin sitoplazma membranında kanallar oluşturması,

F: AMKP'lerin sitoplazma membranından geçerek hücre içine girmesi.

Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin hücre içine girişin mekanizmasında ilk olarak negatif yüklü bir yüzey olan LPS ile pozitif yüklü olan AMKP'ler şekil.2A'da görüldüğü gibi etkileşime girerler. Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin LPS'e olan afiniteleri +2 değerlikli katyonlar olan ve LPS'i bir arada tutan Ca^{+2} ve Mg^{+2} , dan üç kat daha fazla olduğu için AMKP'ler ile bu katyonlar yarışmalı olarak yer değiştirirler. Bunun sonucu olarak AMKP'ler hücre dışı membran yüzeyinde birikerek LPS'i nötralize edip dış membranın normal bariyer bütünlüğünü bozarlar 'Bkz.şekil.2B'. Bütünlüğü bozulan dış membran bu şekilde hidrofobik yapılar, küçük proteinler, antimikrobik maddeler ve en önemlisi AMKP'ler için geçirgen hale gelir. Böylece AMKP'ler kendi destekledikleri yolla dış membrandan geçerek fosfolipit yapıdaki sitoplazma membranına ulaşırlar[72]. AMKP'lerin mikrobiyalın dış membranından geçmesi, bu maddelerin öldürücü etkileri için gerekli fakat tam olarak yeterli değildir. Hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler için asıl öldürücü olan AMKP'lerin negatif yüklü sitoplazma membranı ile elektrostatik olarak etkileşime girmesidir. Bu olay sırasında AMKP'lerin hidrofilik grupları ile membran fosfolipitlerinin hidrofobik zincirleri karşı karşıya gelir, peptitler şekil 2C'de görüldüğü gibi membrana paralel bir konum alarak membranın bütünlüğünü bozan geçiş yolları/kanallar oluşmasına neden olurlar(şekil 2E)[71,73]. Bu olayı açıklamak için çeşitli mekanizmalar tanımlanmış, bu mekanizmalardan başlıcaları şekil 3. te belirtilmiştir[74-76].



Şekil 3: Antimikrobiyal etkili katyonik peptitlerin başlıca önemli geçiş mekanizmaları

2.4.4.1 Fıçı tahtası modeli

Fıçı tahtası modelinde farklı sayıdaki AMKP'ler membranın iç kısmında bir halka görünümünü oluşturacak şekilde dizilirler. Membranda geçiş kanallarının oluşmasını sağlayan bu AMKP'lerin her biri fıçıyı oluşturan tahtalara benzediğinden dolayı bu modele fıçı tahtası modeli adı verilmiştir. Bkz.şekil.3A' [77].

Fıçı tahtası modeli, amfipatik α -helezon yapısındaki AMKP'lerden oluşan bir peptit yığını tarafından oluşturulmaktadır. Amfipatik α -helezon yapısı dışında hidrofobik α -helezonal, β -şeridi ya da hem α -helezon hem β -şeridi içeren peptitlerden oluşan bir yığın şeklinde de bulunabilirler. Bu modele göre peptitlerin hidrofilik kısımları çözücü ile, hidrofobik yüzleri ise membranın lipit kısmı ile temas eder ve sonuçta membranda kanallar ya da porlar meydana gelir. Bu modele göre etki eden AMKP'ler arasında pardaksin, α -5-helezon 6-endoksin ve alametisin bulunmaktadır[78].

2.4.4.2.Kilim modeli

Kilim modeline göre bakteri hücresinin dış membran yüzeyinde bulunan negatif yüklü fosfolipit gruplar ile pozitif yüklü AMKP'ler arasındaki ilk etkileşim elektrostatik olarak meydana gelir. AMKP'lerin hidrofilik yüzleri bakteri membranındaki fosfolipit gruplarla karşılıklı gelecek şekilde hedef hücrenin yüzeyine bağlanarak hücreyi bir kilim gibi örterler 'Bkz.şekil.3B'. Bu AMKP'ler yeterli konsantrasyona ulaştıktan sonra peptit molekülleri dönerek membranın hidrofobik kısmına doğru bakacak şekilde yeniden yerleşirler ve deterjanlara benzer bir etki göstererek membranın parçalanmasını gerçekleştirirler[78,79].

Fıçı tahtası modelinin aksine kilim modelinde pozitif yüklü AMKP'ler bakteri membranının hidrofobik kısmının içine girmezler, bunun yerine hidrofilik kısımları birbirine bakacak şekilde konumlanırlar. Ayrıca bu mekanizmaya göre AMKP'lerin belirli bir yapıda olmaları gerekli değildir, farklı sekonder yapılardan ve büyüklüklerden oluşabilirler[77,78].

2.4.4.3.Toroidal model

Toroidal modelin fıçı tahtası modelinden farklı olarak peptitlerin lipit membran içinde dikey olarak yerleşmeleri ve her zaman membranın lipit grupları ile bir arada bulunarak geçiş yolları oluşturmalarıdır. Toroidal modele göre etki eden a-helezonal peptitler membrana paralel bir konum aldıktan sonra peptitlerin hidrofobik aminoasit grupları ile membranın polar grupları yer değiştirirler 'Bkz.şekil.3C'. Bu durum, membranın hidrofobik kısmında membrana dik olarak bulunan ve peptit ve lipit grupları boyunca uzanan yarıkların oluşmasına neden olmaktadır. Bu modele göre etki eden peptitler arasında magaininler ve mellitin bulunmaktadır[77,81].

2.4.4.4.Miçel agregat modeli

Miçel agregat modelinde farklı sayılardaki AMKP'lerin oluşturduğu topluluklar, konsantrasyonlarına ve sitoplazma membranındaki elektriksel etkileşime bağlı olarak membran yüzeyinde yerleşirler. Bu AMKP'ler membran boyunca miçellere benzeyen bölgesel birikmeler meydana getirerek kanalların açılmasına sebep olurlar 'Bkz.şekil.3D'. [66]. Kurbağadan elde edilen buforin II'nin membranlardan geçişini bu modele göre gerçekleştirdiği belirtilmiştir[80].

Antimikrobik etkili katyonik peptitlerin hücre içine girdikten sonra oluşturdukları öldürücü etkilerinin, parçalanmış membranın gösterilmesinin dışında farklı şekillerde de görülebildiğine dair çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bunların arasında spesifik membran proteinlerinin sentezinin durdurulması (atazinler ve gloverin), stres proteinlerinin sentezlenmesi, DNA sentezinin bloke edilmesi (PR-39), tek zincirli DNA'nın parçalanması (defensinler), DNA ile etkileşime girerek çeşitli hücrel olayların engellenmesi (buforinler) ya da hidrojen peroksit üretiminin tespit edilmesi sayılabilir[82-85]. Ayrıca bazı peptitlerin etki gösterdiği bazı spesifik enzimatik hedefler de tanımlanmıştır. Örneğin pirolince zengin bir böcek peptiti olan prikorisinin, şaperon destekleyici proteini inhibe eden bir protein olan ısı şok proteini DnaK'yı inhibe ettiği gösterilmiştir [77, 89, 90].

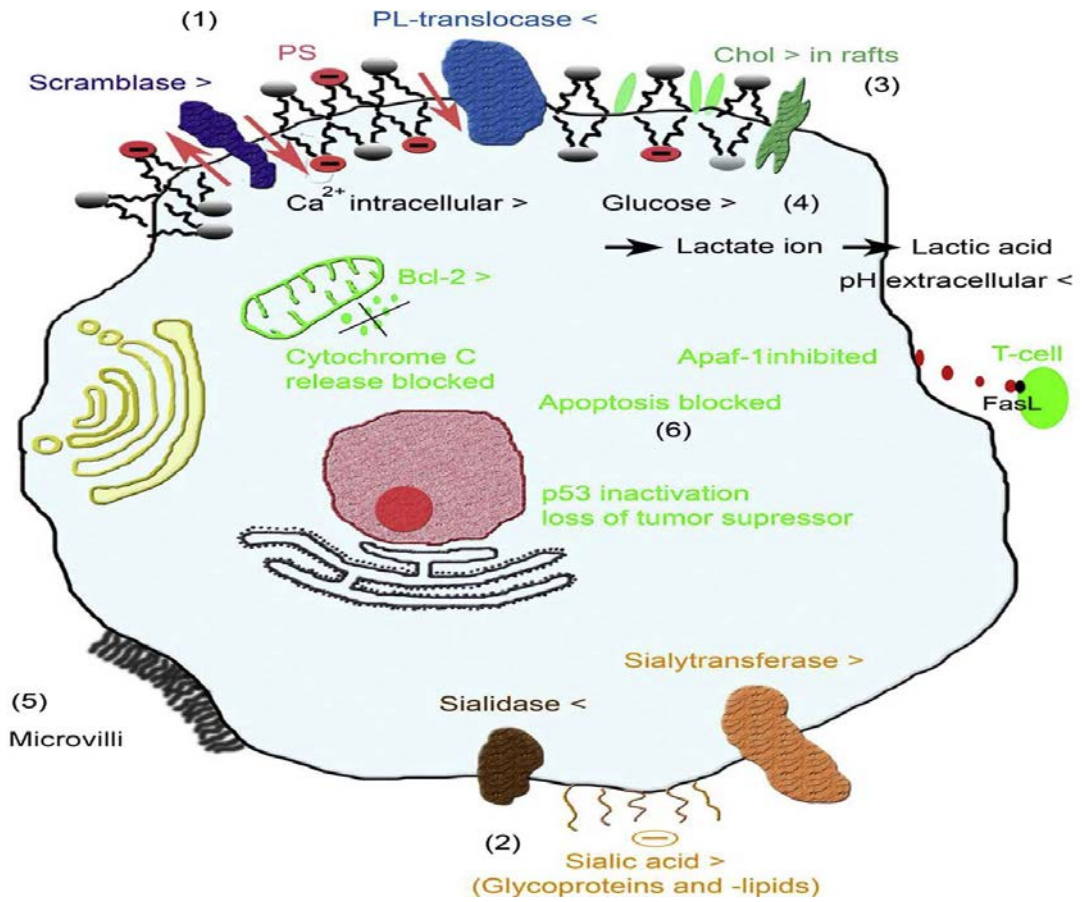
İlk keşfedilen antibiyotik olan penisilinin klinik kullanıma girmesinden hemen sonra bu maddeye karşı direncin gelişebildiği ortaya konulmuştur. Penisilin, ilaç olarak kullanılmaya başlandığı sıralarda doğada kendisine karşı dirençli mutantların gelişimine izin verecek kadar fazla miktarda sentezlenmemekteydi. Ancak penisilinlerin yaygın şekilde kullanılmaya başlanmasının ardından dirençli suşlar seçilerek hızla çoğalmaya başlamış ve bu durum penisilinin kullanımını oldukça sınırlamıştır. Diğer antibiyotik grupları da benzer şekilde direnç problemi ile karşı karşıyadırlar. Katyonik peptitler ise milyonlarca yıldır doğada birçok canlı tarafından bol miktarda sentezlenerek kullanılmaktadır ve buna rağmen bu maddelere karşı önemli bir direnç gelişimi söz konusu olmamıştır. Bu durum, gelecekte de antimikrobik etkili katyonik peptitlerin direnç gelişimi konusunda ciddi bir sorun yaşanmaksızın önemli bir antibiyotik grubu olarak insanlığa hizmet edeceğinin göstergesidir[99].

2.5. Antimikrobiyal Etkili Katyonik Peptitlerin Kanser Hücreleri Üzerindeki Roller

Son yıllarda kanser tedavisinde birçok başarılı gelişmeler olmasına rağmen özellikle mevcut ilaçların düşük spesifikliği ve kemoterapiye olan dirençten dolayı problemler artmaya devam ediyor. Doğuştan gelen bağışıklığın efektör molekülleri olan antimikrobiyal etkili katyonik peptitler alternatif antikanser ilaç moleküllerinin geliştirilmesi için yeni bir stratejiyi temsil etmektedir. Bu katyonik amfipatik peptitler kanser hücreleri ile kanser olmayan hücreler arasındaki farklılıklar olan fosfotidilserin (PS), sialik asit, veya heparin sülfat gibi negatif yüklü membran componentleri bulunan

kanser hücresi ile etkileşime girebilmektedir. Ayrıca kanser hücrelerinde microvillilerin sayısındaki artış bu peptitlerin etkileşimini artırmaktadır[100].

Antimikrobiyal etkili katyonik peptitler kanser hücre mebranlarındaki spesifik negatif yüklü membran molekülleri ile etkileşerek kanser hücrelerini apoptozise götürmektedir[97,98]. Bu yüzden hem primer tümörlerde hemde metastatik tümörlerde etkilidir. İn vivo çalışmalarda antimikrobiyal etkili katyonik peptitler birçok kansere karşı antikanser aktivite gösterdiği belirtilmiştir[95, 96].



Şekil.4. Membranla ilgili kanser hücrelerinin spesifik özelliklerinin taslağı ve genetik değişiklikler.

Katyonik antikanser peptitlerin seçiciliği, PS gibi hücre yüzeyinde korunmasız bulunan anyonik hedef moleküllerin direkt etkileşimiyle kullanılabilir. PS nin ortaya çıkması,(1) varsayılan bir karıştırıcının aktivasyonu ve varsayılan bir ATP bağımlı fosfolipid-translokazı içeren birkaç hücre prosesiyle ilişkilidir. Normalde koruyucu bir kalkan sağlayan kanser yüzeylerindeki protein ve Sialik asit glikolipidlerdeki seviye artışları, ayrıca pozitif yüklü peptitler için de bir hedef olabilir. Dahası membran akışkanlığındaki değişiklikler(3) ve pH(4) , yüksek sayıdaki mikrovili(5) varlığı

dolayısıyla kanser hücrelerindeki artan yüzey alanından da etkilenebilen peptidlerin duyarlılık ve aktivitesini etkiler. Son olarak, sitosolik kompartmanların içine doğru yer değiştiren peptidler; mitokondrinin anyonik lipidleriyle birbirini etkileyebilir, normalde tümör baskılayan p53(6) inaktivasyonunda olduğu gibi; tümör hücrelerindeki farklı değişikliklerle engellenebilen bir proses olan apoptozisi tetikleyebilir

2.5.1.Kanser Hücresi Dış Membranında Bulunan Anyonik Fosfolipidlerin varlığı

Nitekim kanser ve kanser olmayan hücreler arasındaki ana farklardan biride fosfolipidlerin (PS) dir. Kanser hücre membranının dış yüzeyinde negatif yüklü bir lipid olan PS yer almaktadır. Kanser olmayan hücrelere membranına zwitter iyonik form kazandıran fosfatidilkolin ve sifingomiyelin bulunmaktadır[101]. Fosfolipidlerin ile birlikte ökaryotik plazma membranının iç yaprakçığında yerleşmiş fosfolipidlerin bulunmasıdır. Bu asimetrik dağılım iki membran yaprakçığındaki fosfolipidler arasındaki etkileşim iyi bir şekilde açıklanmıştır[102]. İlk olarak ATP bağımlı aminofosfolipid translokaz aktivitesi tarafından sürdürüldüğü varsayıldı veya her iki yapraktaki fosfolipitlerin non-spesifik hareketlerini başlatan Ca^{+2} bağımlı karıştırıcı aktivitesi tarafından ortadan kaldırıldı[102,103].

İki yaprak arasındaki majör fosfolipidlerin bu asimetrik dağılımı iyi bir şekilde ayarlanmıştır ve ATP bağımlı aminofosfolipid translokaz aktivitesi tarafından sürdürüldüğü varsayılmaktadır yada her iki yapraktaki fosfolipitlerin non-spesifik hareketini tetikleyen Ca^{+2} bağımlı skramblaz aktivitesi tarafından bu düzen bozulmaktadır[103].

Birçok kanser hücresinde membran farklılıkları gösterilmiştir ve buda kanserde gelecek vaad eden uniform bir belirteç olabileceği fikrini ortaya çıkardı[104]. Tümörjenik hücrelerde PS çalışmaları bu fikir e öncülük etmiştir. İlk ovarium kanserinde [105], PS'nin varlığı kanıtlandı ve bu çalışmadan sonra çeşitli kanser tiplerinde de PS düzeyinin yüksek olduğu saptandı.

Genellikle kanser hücreleri plazma membran dış yaprakçıklarında PS'yi eksprese etmekte ve bu PS apoptozisi tetikleyen makrofajlar ve dentrik hücreler tarafından fark edilmektedir[106-108]. Bununla birlikte tümör hücreleri PS'nin varlığına rağmen makrofajlar tarafından tanınmasının önüne geçebilmekte ve apoptozisi engelleyebilmektedir. Örneğin akciğer ve kolon kanserinde fasL isimli bir molekülün

yükselen seviyede salınımı T-hücrelerinin ölüm akivatörlerine bağlanarak hücre ölümünü engellemektedir[109-115].

2.5.2 Kanser Hücre Yüzeyindeki Sialik Asit Kalıntılarının Artışı

İnsan hücre yüzeylerindeki negatif yüklerin diğer bir kaynağı; glikolipid ve glikoproteine bağlı olan sialik asit kalıntıları tarafından sunulmaktadır. Transmembran müsinlerin ekspresyonu, epiteldeki karsinoma hücreleri için gösterilmiştir[115,116]. Transmembran müsin 1, %90'dan fazla oranda meme kanserinde ve sıklıkla akciğer, over, kolon, pankreatik karsinomalarında da eksprese edilmiştir[117]. Ayrıca yüzey sializasyonunun gelişmesi, konak immün sistemine karşı koruyucu bir özellik sergileyen çeşitli kanser hücrelerinin metastatik potansiyali ile direkt ilişkili olduğu belirtilmiştir[118,119]. Peptid membran etkileşimi açısından farklı düzeylerdeki sializasyonun etkisi, daha az yoğunlukla çalışılmaktadır[120].

2.5.3. Heparin Sülfat

Yukarıdaki kaynaklara ek olarak kanser hücre yüzeyindeki negatif yüklere proteoglikanların rol oynadığı ayrıca belirtilebilir[121]. Bu proteinlerin liner tekrarlayan sülfatlanmış disakkaritlerden meydana gelen heparin sülfat ve kondroitin sülfat formunda yan zincirlerinde bolca yüksek negatif yüklü glikozaminoglikanları içermektedir[122,123]. Bu disakkaritler verimli yüksek negatif yük içeren fazlaca sayıda sülfat gruplarını bulundurlar[124]. Heparin sülfat birçok kanser hücresi için rapor edilmiştir[125-129]. Heparin sülfat antikanser peptitlerin aktivasyonunu inhibe edebileceği belirtilmiş olmasına rağmen membran aktif peptit olan bLFCin'den heparin sülfat ile etkileşime giren yeni peptitler dizayn edilmiştir[130].

2.5.4. Mikrovililer

Kanserli ve kanserli olmayan hücreler arasındaki önemli bir farklılık, bu hücrelerdeki mikrovililerin artışıyla tetiklenen tümörojenik hücrelerin yüzey alanlarındaki artıştır [131-134]. Mikrovili artışı bir kanser hücresinin daha fazla miktarda peptit ile etkileşimini arttırabildiği için, mikrovili artışında membran aktif peptitlerin uygulanmasının yararlı olacağı gösterilmiştir[131,132]. Bu görüşü desteklemek için, sekropin B'nin KG-1 lösemi gibi tümör hücrelerinde ve fibroblastlar ve kırmızı kan hücreleri gibi tümörlü olmayan hücrelerdeki sitolitik etkisi bir çalışmada incelenmiş ve

peptidin kanserli hücrelerde, normal hücrelerden daha etkili olduğu vurgulanmıştır[135]. Taramalı elektron mikroskobu bilgisine dayanarak; Ayrıca kanser hücreleri üzerinde bulunan mikrovillerin sayısının normal hücreden fazla olması membran akışkanlığını arttırmakta ve antikanser peptitlerin etkinliğini yönetebileceği düşünülmektedir[136].

Özetle, katyonik amfipatik peptidlerin birikimi; hem hücre yüzeyinde anyonik bileşenlerin varlığında, hemde mikrovili sayısının artmasına neden olan yüzey alanının artışıyla tetiklenebilir. Ancak, peptidlerin girişi esas olarak, ökaryotik membranlarda genellikle kolesterol içeriğiyle düzenlenen membran akışkanlığı aracılığıyla kontrol edilmektedir[136,137].

Bu yüzden, lipid bileşimindeki ve hücre membranlarının morfolojisindeki farklılıklar, membran aktif peptidlerle etkileşimi yönetmektedir ve dahası, bazı antikanser peptidlere karşı farklı tip kanser hücrelerinin duyarlılığının farklılık göstermesiyle de ilişkili olabilir.

2.5.5. Nekroz veya Apoptoz Yollarının Tetiklenmesi

Kanser hücrelerinin membran bağımlı ölümleri antikanser peptitlerin nekroz yada apoptoz yollarını tetiklediği düşünülmüş ve açıklanmaya çalışılmıştır. Nekroz yolunda hücre membranının parçalanması, apoptoziste mitokondrial lizis gerçekleştiği varsayılmakta ve bunun nedeni de anyonik lipidlerin varlığı olabileceği düşünülmüştür[109, 131, 138]. Kanser hücrelerinin en dış yaprağındaki negatif yüklü fosfolipidlerin ve mitokondrial membrandaki başlıca anyonik fosfolipid olan kardiyolipin sayesinde antikanser peptitler kanser hücresi hedef alınmaktadır. Diğer kaynaklarda negatif yüklü moleküllerden söz edilmektedir kanser olmayan plazma membranında bulunan sialik glikoproteinler veya heparin sülfat proteoglikanların varlığı ve aşırı ekspresyonu katyonik antikanser peptitlerin etkisi ve aktivitesi değerlendirilirken göz önüne alınmalıdır. Peptitlerin antikanser aktivitesi üzerinde az sayıda sistematik çalışma yapılmıştır ve çelişkili etkilerinin olduğu görülmektedir[163]. Sonuç olarak membranın yapısal gereksinimlerini karşılamak için etkili lipid-peptit etkileşimi için uygun peptidlere ihtiyaç vardır. Dolayısıyla etkinlik ve seçicilik açısından hemde daha az toksisitesi olan güçlü antitümör peptitler tasarlanmalıdır.

Ayrıca membran bağımlı olmayan mekanizmalarda göz önüne alınmalıdır. Örneğin böcek antimikrobiyal peptit olan alloferon tarafından doğal öldürücü (NK)

hücrelerinin uyarılmasıyla birlikte interferon sentezi veya sitozolik peptit olan mellitin ve cecropin, muhtemelen dolaylı bir mekanizma ile sinyal iletim yollarına müdahale ederek transkripsiyonu inhibe etmektedir. Bu nedenle papo ve shai (2005) arkadaşlar yeni gözlemlerine göre; antitümör peptitlerle sinerjik olarak hareket eden veya kendi sitolik peptitleri ile etkileşen ve aktivite gösteren mekanizma ortaya koydular[132]. AMKP'lerden geliştirilen başlıca antikanser peptitler mambran parçalayarak öldürme mekanizması reseptörsüz ve hızlı bir şekilde gerçekleştiği varsayılmaktadır.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereç

3.1.1.Kullanılan Gereçler

- Santrifüj (MSE MISTRAL 100)
- Derin dondurucu low -85 °C (SANYO-ultra)
- Vorteks (Nuvemix)
- Otomatik Elisa (Chemwell 2902)
- Ependorf tüp (1500 ml)
- Mikropipetler (Gilson)
- Biyokimya Otoanalizörü (Beckman Coulter Shynchron LX-20)

3.2.Yöntem

3.2.1.Hasta ve Kontrol Grubu

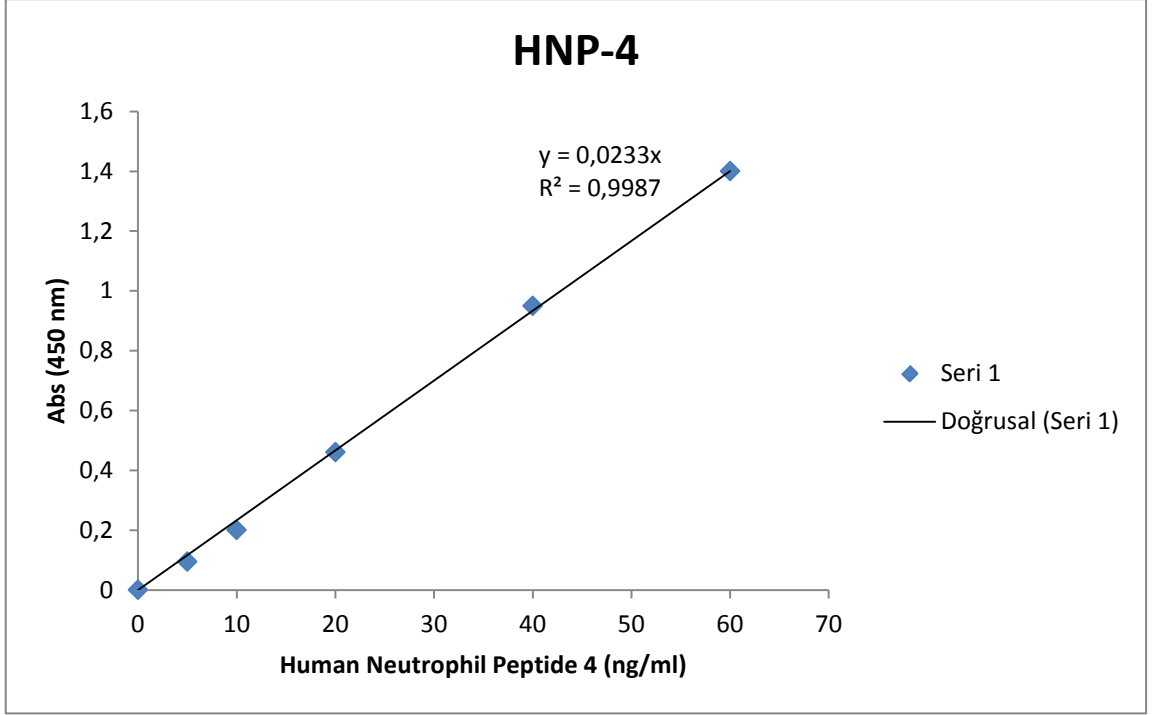
Bu çalışmada grupları oluşturan hastalar, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı Polikliniğine başvuran Tip-2 Diyabet + Meme kanseri teşhisi almış (Grup 1), Meme Kanseri tanısı konmuş (Grup 2) 20 şer kadın birey ve Sivas Numune Hastanesi Dahiliye Polikliniğine başvuran Tip-2 Diyabet tanısı (Grup 3) konmuş 20 kadın hasta bireyle birlikte kontrol grubu olarak hâlihazırda herhangi bir enfeksiyonu ve sistemik hastalığı (diyabet, hipertansiyon, meme kanseri hastalığı vb.) olmayan sağlıklı 20 kadın birey hastane personelinden sağlanmıştır. Meme kanseri tanısı konmuş tüm kadın hastalarda; yaş veya kanserin histopatolojik tipi ile derecesi yönünden bir kısıtlama yapılmadı. Meme kanseri tanısı histolojik olarak doğrulandıktan sonra hastalar çalışmaya dâhil edilmiştir.

3.2.2.Kan Örneklerinin Toplanması

Tip-2 Diyabeti olan ve Tip-2 Diyabeti olmayan Meme Kanseri tanısı konulmuş kadın hastalardan, kontrollerden, Tip-2 Diyabetli kadın hastalardan herhangi bir tedaviye başlanmadan önce, 10 ml kan örneği alındı. Alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar ependorf tüplere kısımlandırılarak ilgili parametreler çalışılmak üzere -80 °C'de muhafaza edildi.

3.2.3. Serumda insan nötrofil peptit 4 (HNP-4) Tayini

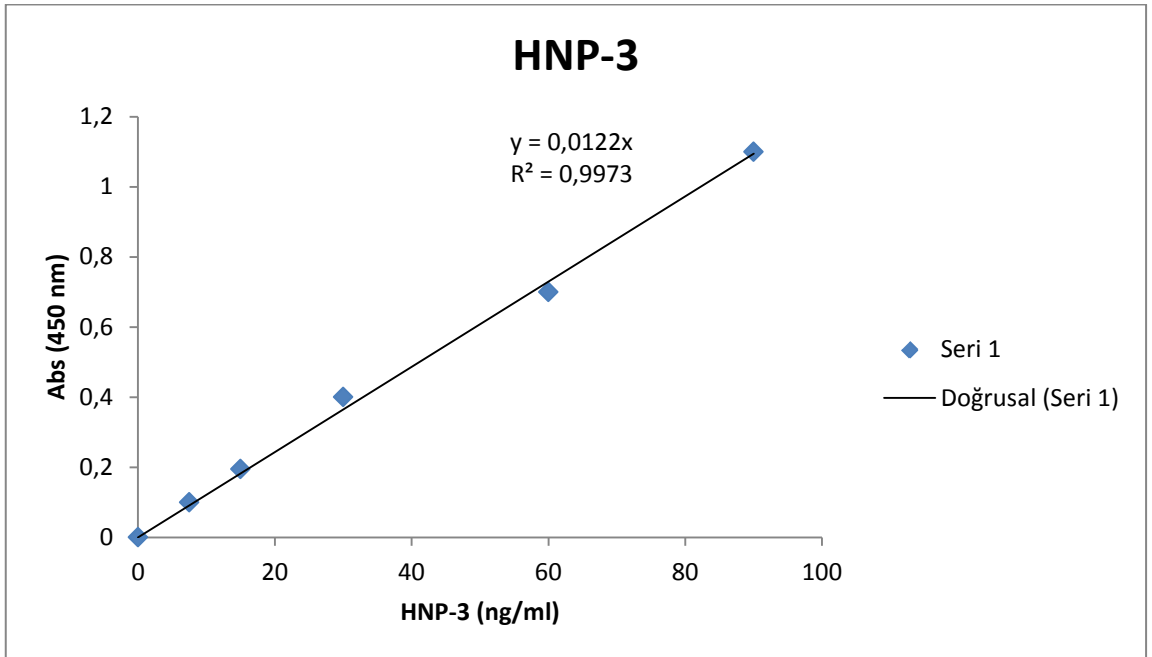
Eastbiopharm Elisa kiti kullanılarak 450nm dalga boyunda Chemwell 2902 markalı otomatik Elisa cihazında HNP-4 tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanlar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 5. İnsan Nötrofil Peptit 4 Standart Eğri Grafiği

3.2.4. Serumda insan nötrofil peptit 3 (HNP-3) Tayini

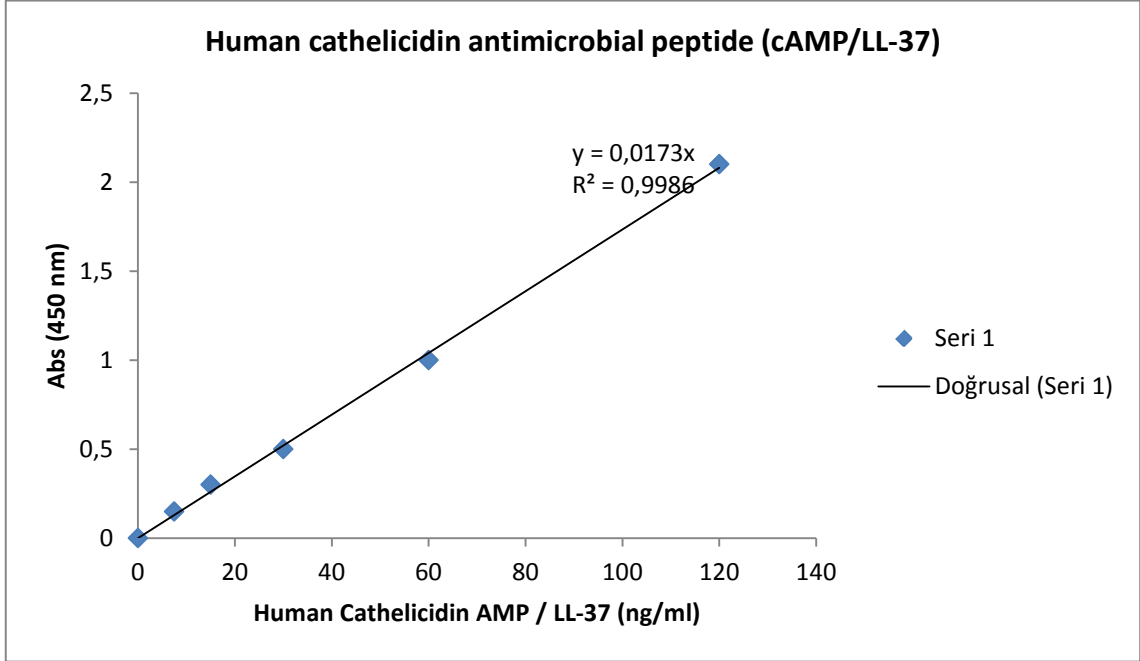
Eastbiopharm Elisa kiti kullanılarak 450nm dalga boyunda Chemwell 2902 markalı otomatik Elisa cihazında HNP-3 tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbanlar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 6. insan nötrofil peptit 3 standart eğri grafiği

3.2.5. Serumda insan kathelisidin antimikrobiyal peptit (cAMP/LL37) Tayini

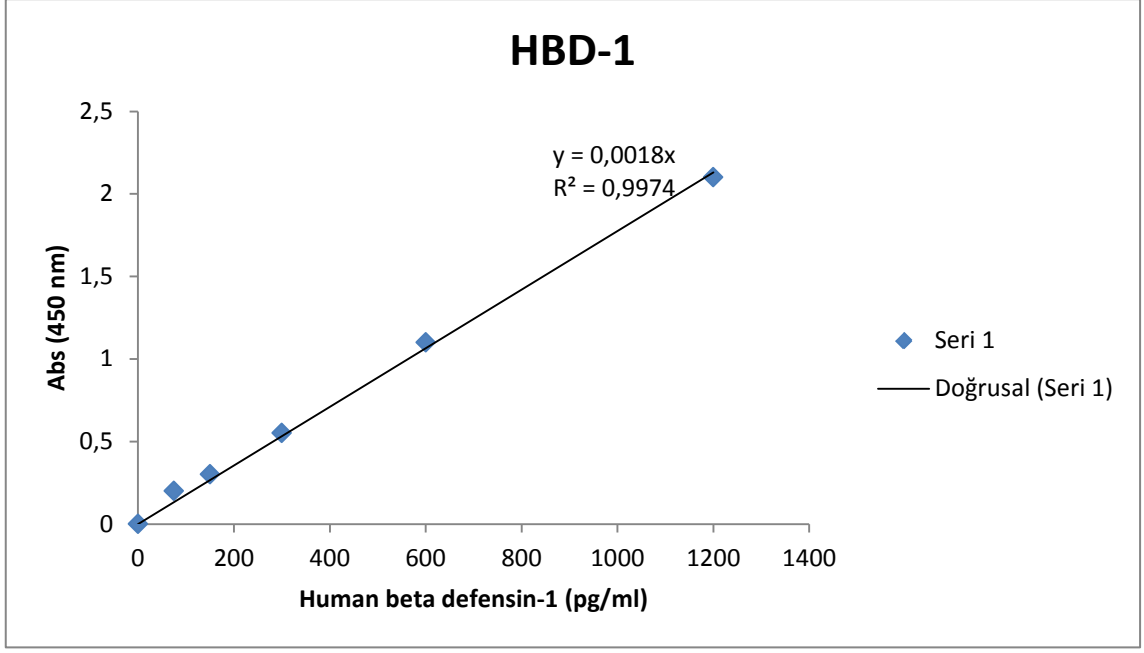
Eastbiopharm elisa kiti kullanılarak 450nm dalga boyunda Chemwell 2902 markalı otomatik Elisa cihazında insan kathelisidin antimikrobiyal peptit (cAMP/LL37) tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbandslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 7. insan kathelisidin antimikrobiyal peptit (cAMP/LL37) standart eğri grafiği

3.2.6. Serumda insan beta defensin peptit 1 (HBD-1/DEFB1) Tayini

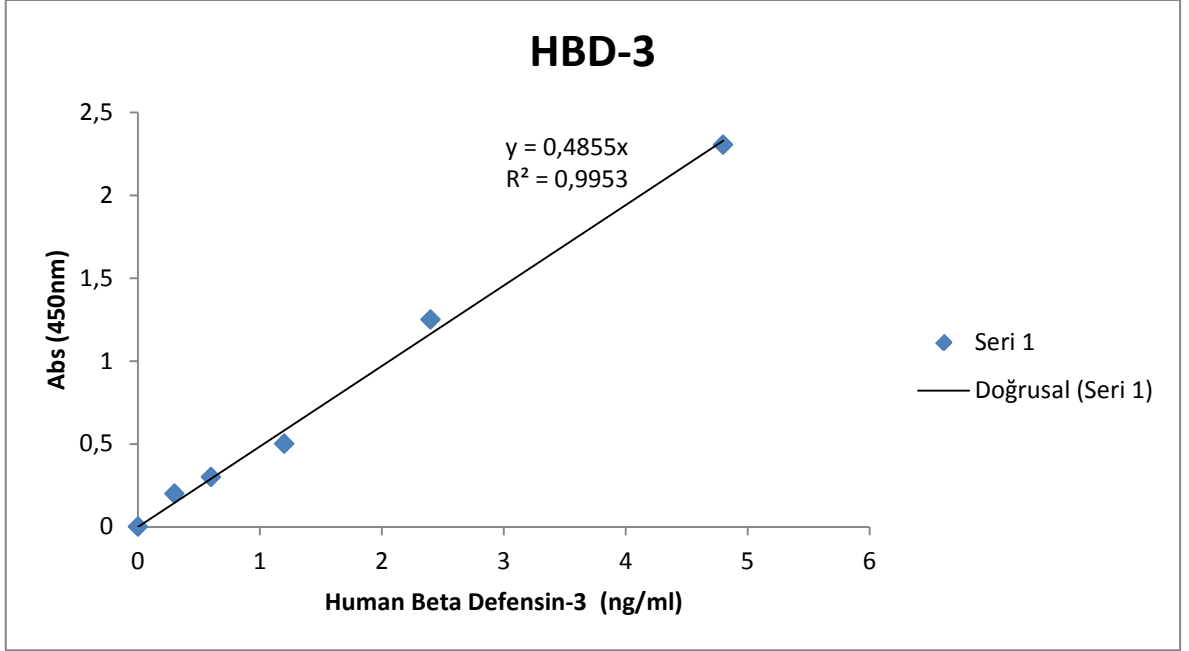
Eastbiopharm elisa kiti kullanılarak 450nm dalga boyunda Chemwell 2902 markalı otomatik Elisa cihazında Human Beta-defensin 1 (HBD-1/DEFB1) tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbandslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 8. Human Human Beta-defensin 1 standart eğri grafiği

3.2.7. Serumda Human Beta-defensin 3 (HBD-3/DEFB3) Tayini

Eastbiopharm elisa kiti kullanılarak 450nm dalga boyunda Chemwell 2902 markalı otomatik Elisa cihazında Human Beta-defensin 3 (HBD-3/DEFB3) tayini yapıldı. Standart derişimlerine karşı okunan absorbandslar aracılığıyla oluşturulan standart eğri denkleminde her bir numunenin derişimi hesaplandı.



Şekil 9. Human Human Beta-defensin 3 standart eğri grafiği

3.2.8. 3.2.3. Serumda D Vitamini Analizleri:

Tüm çalışma gruplarının D vitamini düzeyleri Cumhuriyet üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında hizmet alımı yapılarak saptandı.

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireylere ait çeşitli verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla SPSS 15.0 bilgisayar programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirildiğinde Varyans Analizi, Tukey testi; Parametrik varsayımlar yerine getirilemediğinde Kruskal-Wallis testi, Man Whitney U testi kullanılmış ve yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

5. BULGULAR

Yapılan çalışmada kontrol ve hasta grubuna ait demografik bilgiler Çizelge 5.1 ve 5.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 1.Kontrol ve Hasta Gruplarının Cinsiyetine Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi

Cinsiyet	Kontrol	Hasta
Erkek N (%)	0 (%100)	0 (%100)
Kadın N (%)	20 (%0)	60 (%0)
Toplam N (%)	20 (% 100)	60 (% 100)

Kontrol grubunun % 100’ ünü kadınlar, % 0’ını erkekler, hasta grubunun ise % 100’ünü kadınlar, % 0’ını erkekler oluşturmaktadır.

Çizelge 2.Kontrol ve Hasta Gruplarının Yaşına Ait Bilgiler ve Değerlendirilmesi

	Yaş (X ± S)
Grup1 (Tip 2 diyabet + Meme kanseri) (N=20)	57 ± 7,44
Grup2 (Meme CA) (N=20)	56,52 ± 7,77
Grup3 (Tip 2 diyabet) (N=20)	51,86 ± 4,76
Grup4 (Kontrol) (N=20)	53,11 ± 6,21
Sonuç	F=2,41: p=0,074: p>0,05

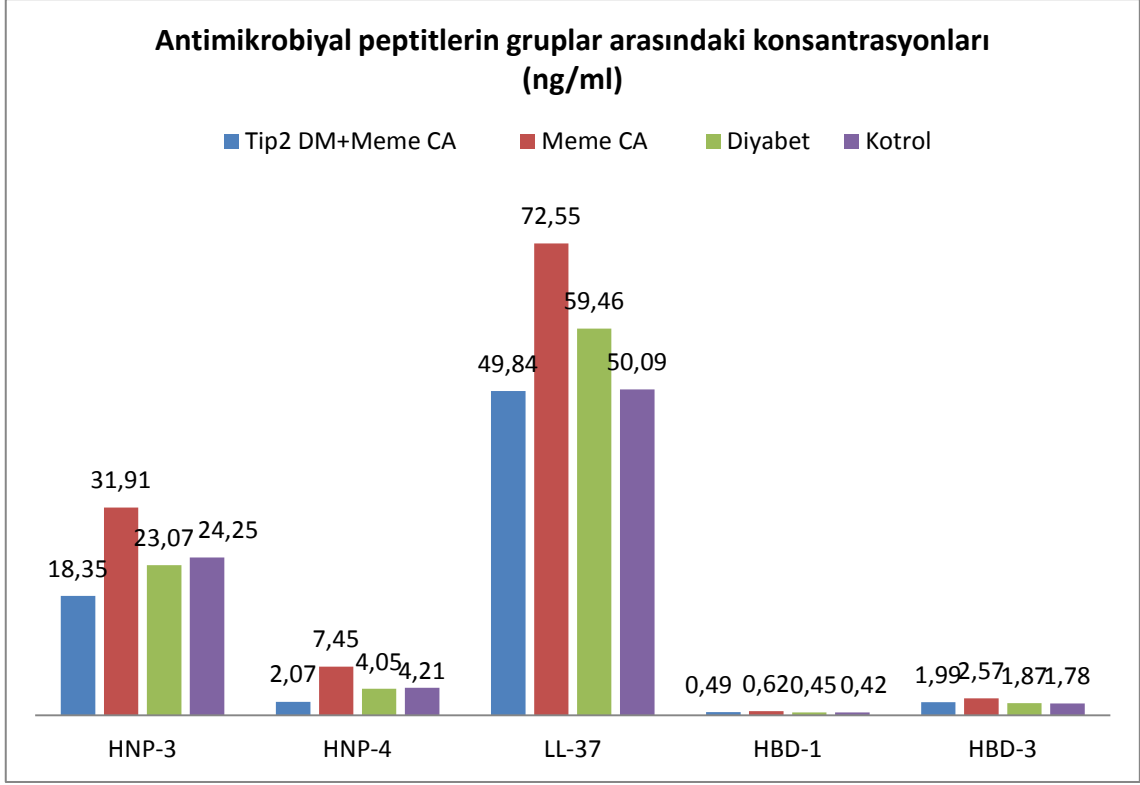
Hasta ve kontrol grubundaki bireyler yaş dağılımları yönünden karşılaştırıldığında çizelge 2’de belirtildiği gibi iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktur (F=2,41: p=0,074: p>0,05) .

Çizelge 3.Ölçülen Parametrelerin AMKP'ler açısından Hasta ve Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi

	HNP-3	HNP-4	LL-37	HBD-1	HBD-3
Grup1 (Tip2 Diyabet+Mem e kanseri)	18,35±5,27	2,07 ± 1,29	49,84±41,8 3	487,35±371,6 1	1,99±1,4 2
Grup2 (Meme kanseri)	31,91±31,3 3	7,45±16,1 5	72,55±63,0 0	623,42±511,7 2	2,57±1,9 5
Grup3 (Diyabet)	23,07±8,04	4,05±4,07	59,46±38,9 4	449,41±294,4 8	1,87±1,1 4
Grup4 (Kontrol)	24,25±7,19	4,21±3,21	50,09±30,3 8	414,76±247,8 3	1,78±1,1 0
Sonuç	KW=16,62 P=0,001	KW=5,91 P= 0,116	KW=2,84 P=0,416	KW=1,65 P= 0,648	KW=1,6 9 P=0,637

Deneysel verilere göre; Her bir gruptaki bireylerin HNP-3 değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmuştur($p<0,05$). Gruplara ait HNP-3 değerleri ikişerli karşılaştırıldığında (Grup 1 ile 2, grup 1 ile 3, ve grup 1 ile 4) farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) diğer gruplar arasındaki (grup 2 ile 3, 2 ile 4, ve 3 ile 4)farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Gruplara ait HNP-4, LL-37, HBD-1 ve HBD-3 ölçümleri karşılaştırıldığında ise farklılık önemsiz bulunmuştur($p>0,05$). Gruplara ait HNP-4, LL-37, HBD-1 ve HBD-3 ölçümleri karşılaştırıldığında ise farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

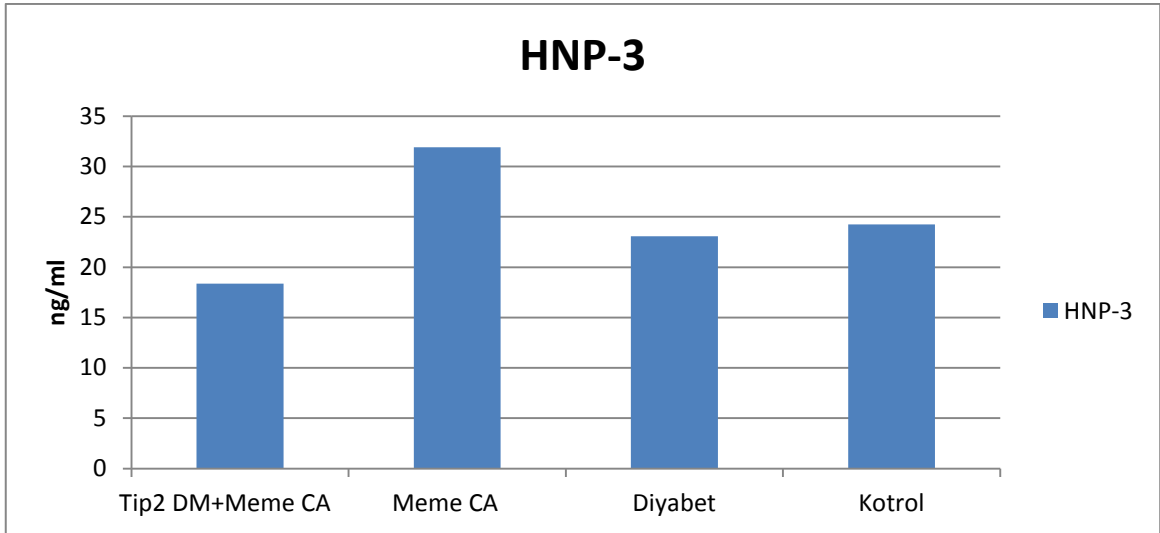
Elde edilen sonuçlara göre her bir gruptaki antimikrobiyal katyonik peptitlerin dağılımları şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Antimikrobiyal Katyonik Peptitlerin Gruplar Arasındaki Konsantrasyonları

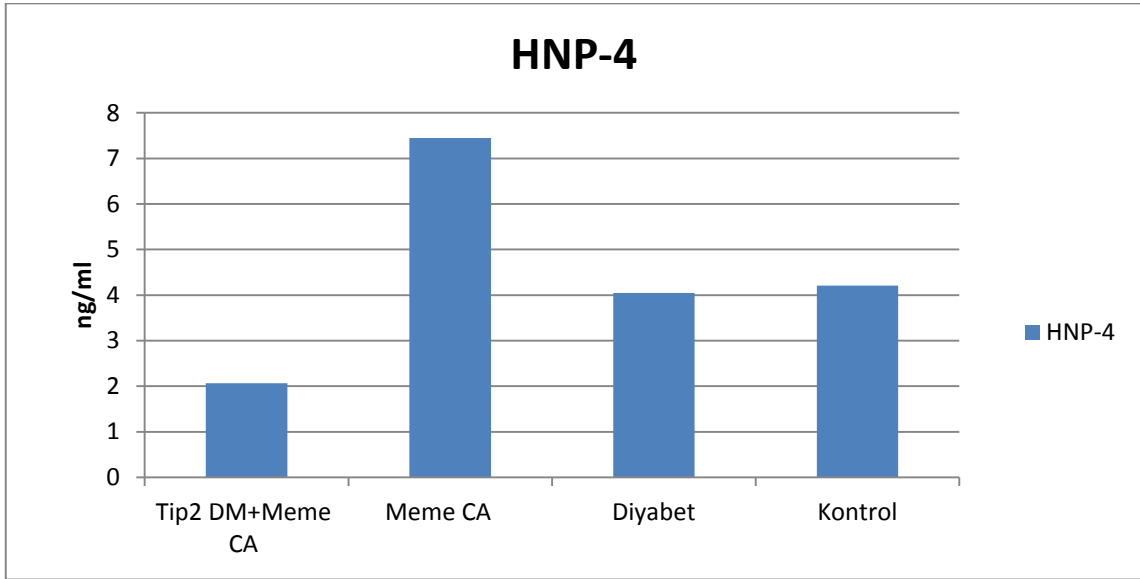
Yapılan analizler sonucunda, çizelge 10’da görüleceği üzere;

5.1 HNP-3 Düzeyi Ortalamaları



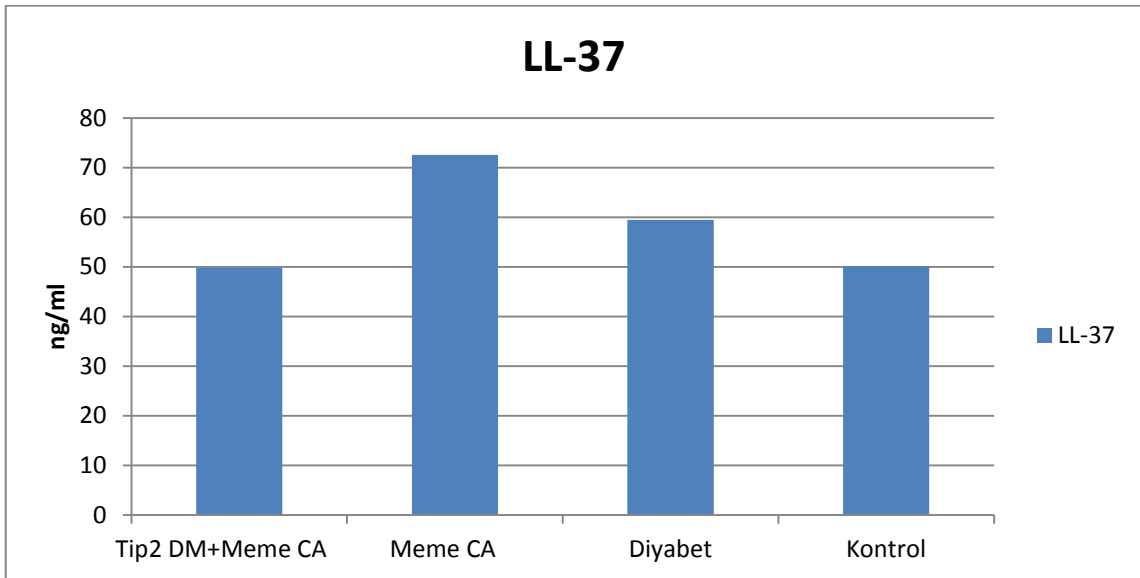
Şekil 11. Serum HNP-3 Ortalamaları

5.2. HNP-4 Düzeyi Ortalamaları



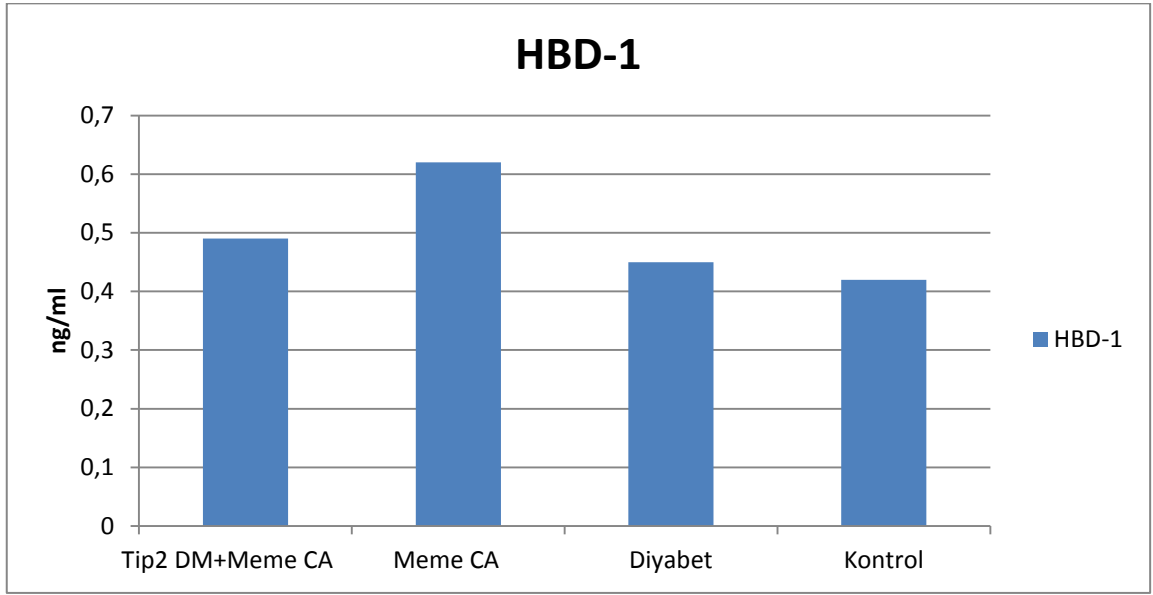
Şekil 12.Serum HNP-4 Ortalamaları

5.3.LL-37 Düzeyi Ortalamaları



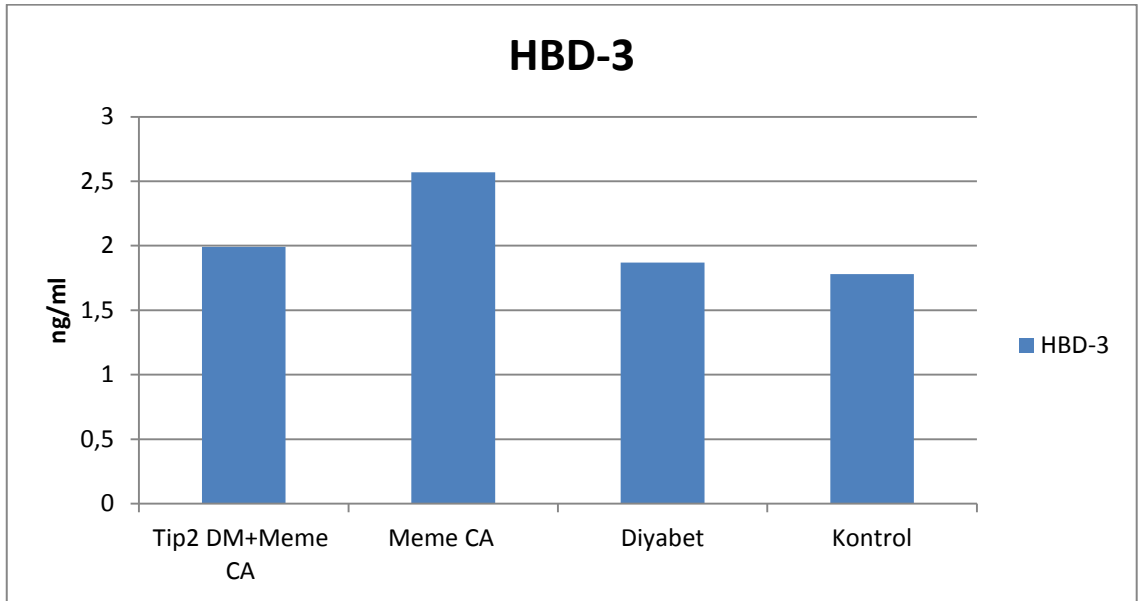
Şekil 13.Serum LL-37 Ortalamaları

5.4. HBD-1 Düzeyi Ortalamaları



Şekil 14.Serum HBD-1 Ortalamaları

5.5. HBD-3 Düzeyi Ortalamaları



Şekil 15.Serum HBD-3 Ortalamaları

5.6. Antimikrobiyal etkili katyonik peptitler gruplara göre kıyaslanması

Tablo 1. HNP-3 Antimikrobiyal Peptinin Gruplara Göre Kıyaslanması

Gruplar HNP-3	Grup1 (T2DM + Meme Kanseri)	Grup2 (Meme Kanseri)	Grup3 (T2DM)
Kontrole (grup4) göre kıyaslama	-5,9 ng/ml Ort. %24 ↓	+7,66 ng/ml Ort. %31,59 ↑	-1,18 ng/ml Ort. %4,9 ↓
Tip 2 diyabete (grup3) göre kıyaslama	-4,72 ng/ml Ort. %20 ↓		
Meme kanserine (grup2) göre kıyaslama	-13,56 ng/ml Ort. % 42,5 ↓		

Tablo 2. HNP-4 Antimikrobiyal Peptinin Gruplara Göre Kıyaslanması

Gruplar HNP-4	Grup1 (T2DM + Meme Kanseri)	Grup2 (Meme Kanseri)	Grup3 (T2DM)
Kontrole (grup4) göre kıyaslama	-2,14 ng/ml Ort. %50 ↓	+3,24 ng/ml Ort. %77 ↑	-0,16 ng/ml Ort. %3 ↓
Tip 2 diyabete (grup3) göre kıyaslama	-1,98 ng/ml Ort. %49 ↓		
Meme kanserine (grup2) göre kıyaslama	-5,38 ng/ml Ort. % 72 ↓		

Tablo 3.LL-37 Antimikrobiyal Peptinin Gruplara Göre Kıyaslanması

Gruplar LL-37	Grup1 (tip2 diyabet+meme kanseri)	Grup2 (meme kanseri)	Grup3 (tip2 diyabet)
Kontrol (grup4) göre kıyaslama	-025 ng/ml Ort. %0,5 ↓	+22,46 ng/ml ↑ Ort. %45	+9,37 ng/ml ↑ Ort. %18,7
Tip 2 diyabete (grup3) göre kıyaslama	-9,62 ng/ml Ort. %16 ↓		
Meme kanserine (grup2) göre kıyaslama	-22,7 ng/ml Ort. %31 ↓		

Tablo 4.HBD-1 Antimikrobiyal Peptinin Gruplara Göre Kıyaslanması

Gruplar HBD-1	Grup1 (tip2 diyabet+meme kanseri)	Grup2 (meme kanseri)	Grup3 (tip2 diyabet)
Kontrol (grup4) göre kıyaslama	+0,07 ng/ml ↑ Ort. %16	+0,20 ng/ml ↑ Ort. %47	+0,03 ng/ml ↑ Ort. %7
Tip 2 diyabete (grup3) göre kıyaslama	+0,04 ng/ml ↑ Ort. %9		
Meme kanserine (grup2) göre kıyaslama	-0,13 ng/ml ↓ Ort. %21		

Tablo 5.HBD-3 Antimikrobiyal Peptinin Gruplara Göre Kıyaslanması

Gruplar HBD-3	Grup1 (tip2 diyabet+meme kanseri)	Grup2 (meme kanseri)	Grup3 (tip2 diyabet)
Kontrol (grup4) göre kıyaslama	+0,21 ng/ml ↑ Ort. %12	+0,79 ng/ml ↑ Ort.%44	+0,09 ng/ml ↑ Ort. %5
Tip 2 diyabete (grup3) göre kıyaslama	+0,12 ng/ml ↑ Ort. %6		
Meme kanserine (grup2) göre kıyaslama	-0,58 ng/ml ↓ Ort. %29		

Çizelge 4.Ölçülen Parametrelerin D vitamini ve HbA_{1c} Açısından Hasta ve Kontrol Grubunda Değerlendirilmesi

	Vitamin D (X ± S)	HbA_{1c} (X ± S)
Grup1 (Tip2Diyabet+Meme kanseri) (N=20)	8,81±2,59	7,78±1,29
Grup2 (Meme kanseri) (N=20)	15,98±13,71	5,77±0,53
Grup3 (Tip 2 diyabet) (N=20)	18,20±22,34	9,60±2,14
Grup4(Kontrol) (N=20)	17,98±20,92	5,74±0,50
Sonuç	KW=8,20 P=0,042	F=41,08 ^{*****} p=0,001 ^{*****}

5.7.Vitamin D ortalamaları

Vitamin D yönünden gruplar karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur (p<0,05). Gruplar ikişerli karşılaştırıldığında; grup 1 ile 2 (Tip2 Diyabet+Meme kanseri ile Meme kanseri), grup 1 ile 3 (Tip2 Diyabet+Meme kanseri ile Tip2 diyabet), grup 1 ile 4 (Tip2 Diyabet+Meme kanseri ile Kontrol grubu) arasındaki farklılıklar önemli bulunurken (p<0,05) diğer gruplar arasındaki (grup 2 ile 3, grup 2 ile 4, grup 3 ile 4)farklılık önemsiz bulunmuştur (p>0,05).

5.8.HbA_{1c} ortalamaları

HbA_{1c} yönünden gruplar karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur (p<0,05). Gruplar ikişerli karşılaştırıldığında grup 1 ile 2 (Tip2 DM+Meme kanseri ile Meme kanseri), grup 1 ile 3 (Tip2 Diyabet+Meme kanseri ile Tip2 diyabet), grup 1 ile 4 (Tip2 Diyabet+Meme kanser ile Kontrol grubu) arasındaki farklılıklar önemli bulunurken (p<0,05) diğer gruplar arasındaki (grup 2 ile 3, grup 2 ile 4, grup 3 ile 4) farklılık önemsiz bulunmuştur(p>0,05). grup 1 ile 4 (Tip2 Diyabet+Meme kanser ile Kontrol grubu) arasındaki farklılıklar önemli bulunurken (p<0,05) diğer gruplar arasındaki (grup 2 ile 3, grup 2 ile 4, grup 3 ile 4) farklılık önemsiz bulunmuştur (p>0,05).

6.TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamızda insan doğal antimikrobiyal etkili katyonik peptitler olan HNP-3, HNP-4, LL-37, HBD-1, HBD-3 serum düzeylerini grup 1 (T2DM+meme kanseri), grup 2 (Meme kanseri), grup 3 (T2DM) ve grup 4 (Kontrol) olmak üzere ayırarak Tip-2 diyabet, Meme kanseri ve her iki hastalığı taşıyan kadın hasta bireylerde inceledik.

Deney sonuçlarımıza göre; her bir gruptaki bireylerin HNP-3 değerleri karşılaştırıldığında gruplar arasındaki farklılık önemli bulunmuştur($p<0,05$). Gruplara ait HNP-3 değerler ikişerli karşılaştırıldığında (Grup 1 ile 2, grup 1 ile 3, ve grup 1 ile 4) farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) diğer gruplar arasındaki (grup 2 ile 3, 2 ile 4, ve 3 ile 4) farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$). Gruplara ait HNP-4, LL-37, HBD-1 ve HBD-3 ölçümleri karşılaştırıldığında ise farklılık önemsiz bulunmuştur($p>0,05$).

Tüm gruplar Antimikrobiyal katyonik peptitlerden HNP-3 değerleri açısından grup 4'e (kontrol) göre kıyaslandığında grup 3 (T2DM) ve grup 1'de (T2DM+meme kanseri) düşüş gözlenirken (sırasıyla; %4,9 ve %24). Grup 2 de (meme kanseri) tam tersine %31,59'luk bir artış gözlemlenmiştir. Grup 3'de (T2DM) HNP-3 değerleri grup 1 (T2DM+meme kanseri) ile kıyaslandığında % 20'lik bir azalma gözlemlenmiştir. Grup 2'de (meme kanseri) HNP-3 değerleri grup 1 (T2DM+meme kanseri) ile kıyaslandığında %42,5'lik bir azalma gözlemlenmiştir. Kontrol grubuna göre, grup 3 kıyaslaması bize sadece Tip-2 diyabet hastalarında HNP-3 düzeyinin çok az düştüğünü (% 4,9), oysa aynı kıyaslanmanın grup 1 e göre yapıldığında ise HNP-3 düzeyindeki düşüşün artarak % 24 lük bir seviyeye ulaştığını göstermiştir. Bu verilere ek olarak diyabetin rolünü anlamak için T2DM+Meme kanseri (grup 1) ile Meme kanseri (grup 3) HNP-3 düzeyi karşılaştırıldığında grup 1 deki düşüşün %20 olması diyabetin bu azalmadaki rolünü göstermektedir. Oysa kontrole göre meme kanserinde (grup 2) HNP-3 değerleri %31,59 luk bir artış göstermiştir 'Bkz.Tablo 1'. Yani bu peptit meme kanserinde artış gösterirken, diyabet varlığında meme kanserine rağmen düşüş göstermiştir. Bu peptitin kendisinin ve mRNA düzeylerinin akciğer kanseri [141,142] renal hücre karsinomları[143], mesane karsinomları [144], baş ve boyun karsinomları[145] gibi bir çok kanser tiplerinde [146] ve hatta meme kanserli hastaların ductal lavage sıvılarında da[147] artış gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle tümör hücreleri tarafından HNP 1 ve 3 ün biyolojik sıvılara salgılanmasından dolayı bir tümör belirteci olabileceği önerilmiştir[148,149]. Bizim bulgularımıza göre meme kanserinde artış göstermiş olmasına rağmen, bireyde diyabet gelişmişse HNP 3 ün bir biyolojik

tümör belirteci olarak kullanılamayacağını göstermektedir. HNP 4 kıyaslamalarında HNP 3 e benzer bir durum sergilemiştir. Literatürde bu peptitle ilgili kıyaslama yapabileceğimiz bir çalışma olmadığından dolayı bu konuda karşılaştırma imkanı bulunamamıştır. Ama bizim bulgularımıza göre HNP4 peptid düzeyleri diyabette azalmış, meme kanserinde artmış ama diyabet tabanlı kanser geliştiğinde ise HNP 4 gibi azalma göstermiştir 'Bkz. Tablo 2'. Hatta bu azalma HNP 3 göre nerdeyse iki katıdır (% 72) .

Diğer antimikrobiyal peptitler açısından gruplar incelendiğinde, tümünün meme kanserinde artığı, T2DMte ise α defensinlerden HNP 3 ve 4 de azalma katalisidin peptidi LL-37 ve β defensinlerden HBD 1 ve 3 de ise artma saptanmıştır 'Bkz.Şekil.10'. LL-37 peptidi ile yapılan çalışmalarda kolon kanseri dışında[150]ovaryum, akciğer ve meme kanseri dokularında normal epitel hücrelerle kıyaslandığında ekspresyonunun artığının belirtilmesi[151,152], bizim bulgularımızı da destekler niteliktedir. Katalisidin (LL-37) düzeyleri hem diyabette hemde meme kanserinde artmasından dolayı bu da bir belirteç olma özelliğini yitirecektir. Kanser teşhişi için bu peptid ölçümü yapılacaksa bireyde diyabet olup olmadığı mutlaka saptanıp ortaya konmalıdır. Aksi takdirde hatalı teşhiş söz konusu olacaktır. β defensinler (HBD1 ve 3) de hem T2DM'de hem de meme kanserinde artmıştır 'Bkz.Şekil.14-15'. Bu artışlar grup 1 (T2DM + Meme kanseri) hastalarında da saptanmıştır. Bu artışlar bunların marker olarak kullanılma özelliklerini yukarda bahsedilen benzer nedenlerden dolayı zayıflatacaktır.

İnsan tümörlerinde defensinlerin rolü üzerine hala az sayıda araştırma vardır fakat veriler HBD-1 in tümör baskılayıcı bir gen gibi davranabileceğini önermektedir[153,154]. Bizim çalışmamızda her ne kadar veriler istatistiksel olarak anlamlı olmasa bile HBD-1 serum düzeyi meme kanseri grubunda en fazla olduğu görülmektedir 'Bkz.Şekil14'. Bu verilerden yola çıkacak olursak meme kanseri grubunda HBD-1 peptid düzeyinin artmış olması meme kanserinin ilerlemesini yavaşlatabilir. Fakat meme kanserine diyabet eşlik ederse HBD-1 in tümör baskılayıcı özelliği azalan düzeyinden dolayı düşecektir 'Bkz.Şekil14'.

Tüm antimikrobiyal katyonik peptitler kontrol grubuna göre T2DM hastalarında kıyaslandığında nötrofil kökenli α defensinlerden her ikisinde de (HNP 3ve 4) düşme gözlenmiş, yalnızca HNP 3 deki düşüş istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır ($p<0,05$). β defensinler (HBD1 ve 3) ise % 5 ila 7 civarında bir artış gösterirken, en fazla artış % 18,7 ile katalisidin (LL 37) de olmuştur. Bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı

değildir($p>0,05$). Bu moleküllerin bağışıklık sistemlerinde önemli roller üstlendiği göz önüne alınacak olursa, β defensinlerin (HBD1 ve 3) katkıları olsa da, başlıca yükü LL 37 üstlenecektir. Ama α defensinlerin düzeylerinde ki azalma bağışıklık sisteminde ne kadar zaaf yaratabileceği bilinmese de, bir katkısının olmayacağı da aşıkardır. Böylece diyabetin ilerleyen aşamalarında bağışıklık sistemi de olumsuz yönde daha çok etkilenecektir.Yapılan çalışmalarda göstermiştir ki; diyabetik insanların genellikle enfeksiyonlarla savaşıma yeteneği zayıftır ve bu durumun yaşamı tehdit ettiği belirtilmiştir[155].

Vitamin-D eksikliği birçok kanser tipi, otoimmün hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, enfeksiyonlar ve hipertansiyon ile ilişkilendirilmiştir[156]. Ayrıca 1,25-dihydroxyvitamin D3, vitamin D reseptör yoluyla (VDR) katelicidin (LL-37) gen ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir.(150 26). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde D vitamini düzeyleri hem meme kanseri hem de T2DM + Meme kanseri olan hasta gruplarında düşmüştür. Vitamin D yönünden gruplar karşılaştırıldığında farklılık önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Gruplar ikişerli karşılaştırıldığında grup 1 (T2DM+Meme kanseri) ile grup 2 (Meme kanseri) arasındaki farklılık, grup 1 (T2DM+Meme kanseri) ile grup 3 (T2DM) arasındaki farklılık, grup 1 (T2DM+Meme kanseri) ile grup 4 (Kontrol) ile arasındaki farklılık önemli bulunurken ($p<0,05$) 'Bkz.çizelge.4' diğer gruplar arasındaki farklılık önemsiz bulunmuştur ($p>0,05$).

Sonuç olarak; bu çalışmada antimikrobiyal katyonik peptitlerin T2DM hastalarında, meme kanseri hastalarında ve Tip2 diyabetli meme kanseri hastaların serumdaki düzeylerine bakıldı ve hastalıkla ilişkileri incelendiğinde; Tüm peptitlerin meme kanserinde arttığı, diyabette ise α defensinler hariç diğer üçünde (LL 37, HBD1 ve 3) artış olduğu saptanmıştır. Bu üç peptitin miktarındaki en fazla artışın katelicidin LL 37 de görülmesi ve Tip 2 diyabette insülin direnci ile ilişkilerinin araştırılması açısından önemli olacaktır. Diğer taraftan diyabet grubunda α defensinlerin miktarlarının azalması bağışıklık sistemlerini olumsuz etkileyerek düşüreceğinden enfeksiyonlara yakalanma riskleri de artacaktır. Bu risk diyabet ilerledikçe çok daha belirgin ve etkili olabilir. Diyabetle birlikte meme kanseri de geliştiğinde direnç mekanizmaları çok daha düşeceğinden bireylerin yaşam kaliteleri ve yaşam süreleri de olumsuz olarak etkilenecektir.

Birçok kanser araştırmalarında her ne kadar antibakteriyel etkili peptitlerin tümör belirteci olabileceği söylene de bulgularımız böyle bir tespitite mutlaka diyabet

varlığının araştırılmasının gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Aksi takdirde yalancı pozitif sonuçlar hatalı teşhis ve tedavilere neden olabilir.

7.KAYNAKLAR

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* Mar-Apr 2008;58(2):71-96.
- [2] Lindsey A. Torre, MSPH1; Freddie Bray, PhD2 ; Rebecca L. Siegel, MPH3; Jacques Ferlay, ME4; Joannie Lortet-Tieulent, MSc5; Ahmedin Jemal, DVM, PhD. *Global Cancer Statistics, 2012. CA CANCER J CLIN* 2015;65:87–108
- [3] Arslan S. 2011.Meme Kanseri Hücrelerinde Rock I ve Rock II Gen İfade Düzeylerinin Belirlenmesi.
- [4] Topuz E, Aydiner A, Dinçer M. *Meme Kanseri. Nobel Tıp Kitapevi, 2003.*
- [5] Hsieh CC, Trichopoulos D, Katsouyanni K, Yuasa S. Age at menarche, age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: associations and interactions in an international case-control study. *Int J Cancer* 1990; 46: 796-800.
- [6] Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Lancet* 1997; 350: 1047.
- [7] Rosner B, Colditz GA, Willett WC. Reproductive risk factors in a prospective study of breast cancer: The Nurses' Health Study. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 819-835.
- [8] Rossing MA, Daling JR, Weiss NS, Moore DE, Self SG. Risk of breast cancer in a cohort of infertile women. *Gynecol Oncol* 1996; 60: 3-7.
- [9] Modan B, Ron E, Lerner-Geva L, Blumstein T, Mencer J, Rabinovici J, Oelsner G, Freedman L, Mashlach S, Lunenfeld B. Cancer incidence in a cohort of infertile women. *Am J Epidemiol* 1998; 147: 1038-1042.
- [10] Beral V, Bull D, Doll R, Peto R, Reeves G; Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and abortion: collaborative reanalysis of data from 53 epidemiological studies, including 83,000 women with breast cancer from 16 countries. *Lancet* 2004; 363: 1007-1016.
- [11] Michels KB, Xue F, Colditz GA, Willett WC. Induced and Spontaneous Abortion and Incidence of Breast Cancer Among Young Women: A Prospective Cohort Study. *Arch Intern Med* 2007; 167: 814-820.
- [12] Stuebe AM, Willett WC, Xue F, Michels KB. Lactation and incidence of premenopausal breast cancer: a longitudinal study. *Arch Intern Med* 2009; 169: 1364-1371.
- [13] Jernstrom H, Lubinski J, Lynch HT, Ghadirian P, Neuhausen S, Isaacs C, Weber BL, Horsman D, Rosen B, Foulkes WD, Friedman E, GershoniBaruch R, Ainsworth P, Daly M, Garber J, Olsson H, Sun P, Narod SA. Breast-feeding and the risk of breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1094-1098.
- [14] Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet* 2001; 358: 1389.
- [15] Lynch HT, Watson P, Conway TA, Lynch JF. Clinical/genetic features in hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1990; 15: 63-71
- [16] Ellisen L, Haber D. Hereditary breast cancer. *Ann Rev Med* 1998; 49: 425-436
- [17] Fackenthal J, Marsh DJ, Richardson AL, Cummings SA, Eng C, Robinson BG, et al. Male breast cancer in Cowden syndrome patients with germline PTEN mutations. *J Med Genet.* 2001;38:159-64.

- [18] Kelsey JL, Fischer DB, Holford TR, LiVoisi VA, Mostow ED, Goldenberg IS, White C. Exogenous estrogens and other factors in the epidemiology of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1981; 67: 327-333.
- [19] Evans JS, Wennberg JE, McNeil BJ. The influence of diagnostic radiography on the incidence of breast cancer and leukemia. *N Engl J Med*. 1986;315:810-5.
- [20] John EM, Kelsey JL. Radiation and other environmental exposures and breast cancer. *Epidemiol Rev* 1993; 15: 157-162.
- [21] Ronckers CM, Erdmann CA, Land CE. Radiation and breast cancer: a review of current evidence. *Breast Cancer Res* 2005; 7: 21-32.
- [22] John EM, Phipps AI, Knight JA, Milne RL, Dite GS, Hopper JL, Andrulis IL, Southey M, Giles GG, West DW, Whittemore AS. Medical radiation exposure and breast cancer risk: findings from the Breast Cancer Family Registry. *Int J Cancer* 2007; 121: 386.
- [23] Singletary KW, Gapstur SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA*. 2001;286:2143-51.
- [24] Terry MB, Zhang FF, Kabat G, Britton JA, Teitelbaum SL, Neugut AI, Gammon MD. Lifetime alcohol intake and breast cancer risk. *Ann Epidemiol*. 2006; 16: 230-240.
- [25] Suzuki R, Ye W, Rylander-Rudqvist T, Saji S, Colditz GA, Wolk A. Alcohol and postmenopausal breast cancer risk defined by estrogen and progesterone receptor status:
- [26] Mahoney MC, Bevers T, Linos E, Willett WC. Opportunities and strategies for breast cancer prevention through risk reduction. *CA Cancer J Clin*. 2008; 58: 347-371.
- [27] Bernstein L, Patel AV, Ursin G, Sullivan-Halley J, Press MF, Deapen D, Berlin JA, Daling JR, McDonald JA, Norman SA, Malone KE, Strom BL, Liff J, Folger SG, Simon MS, Burkman RT, Marchbanks PA, Weiss LK, Spirtas R. Lifetime recreational exercise activity and breast cancer risk among black women and white women. *J Natl Cancer Inst*. 2005; 97: 1671-1679.
- [28] Cho E, Chen WY, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Hankinson SE, Willett WC. Red meat intake and risk of breast cancer among premenopausal women. *Arch Intern Med* 2006; 166: 2253-2259.
- [29] Taylor EF, Burley VJ, Greenwood DC, Cade, JE. Meat consumption and risk of breast cancer in the UK Women's Cohort Study. *Br J Cancer* 2007; 96: 1139-1146.
- [30] Linos E, Willett WC. Diet and breast cancer risk reduction. *J Natl Compr Canc Netw*. 2007; 5: 711-718.
- [31] Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, Hollis BW, Colditz GA, Willett WC, Hankinson SE. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1991-1997.
- [32] Reynolds P, Hurley S, Goldberg DE, Anton-Culver H, Bernstein L, Deapen D, Horn-Ross PL, Peel D, Pinder R, Ross RK, West D, Wright WE, Ziogas A. Active smoking, household passive smoking, and breast cancer: evidence from the California Teachers Study. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 29-37.
- [33] McElroy JA, Shafer MM, Trentham-Dietz A, Hampton JM, Newcomb PA. Cadmium exposure and breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 869-873.
- [34] Hankinson SE, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Michaud DS, Deroo B, et al. Circulating concentrations of insulinlike growth factor-I and risk of breast cancer. *Lancet*. 1998;351:1393-6.

- [35] Ekblom A, Hsieh CC, Lipworth L, Adami HQ, Trichopoulos D. Intrauterine environment and breast cancer risk in women: a population-based study. *J Natl Cancer Inst.* 1997;89:71-6.
- [36] Melbye M, Wohlfahrt J, Olsen JH, Frisch M, Westergaard T, Helweg-Larsen K, et al. Induced abortion and the risk of breast cancer. *N Engl J Med.* 1997;336:81-5.
- [37] Grabrick DM, Hartmann LC, Cerhan JR, Vierkant RA, Therneau TM, Vachon CM, et al. Risk of breast cancer with oral contraceptive use in women with a family history of breast cancer. *JAMA.* 2000;284:1791-8.
- [38] Yenigün M. Her Yönuyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı. İstanbul Nobel Tıp Kitabevi 2004
- [39] Ahmed I, Goldstein B, Diabetes Mellitus, *Clinics In Dermatology* (2006) 24, 237-246
- [40] İşçimen A, Arzuhal N, Diabetes Mellitus'lu Hastalarda Görülen Deri Belirtileri 2004/1;18-25
- [41] Yılmaz C, Tüzün. Endokrinoloji El Kitabı. Nobel Tıp Kitabevi, 2004; 35-50.
- [42] Williams G, Pickup J.C, *Handbook of Diabetes Mellitus.* Third Edition. Published by Blackwell, 2004; 40-70.
- [43]. American Diabetes Association Clinical Practice Recommendations. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2007;30 (Suppl.1):S42-S47
- [44] Kumar, Vinay; Fausto, Nelson; Abbas, Abul K.; Cotran, Ramzi S. ; Robbins, Stanley L. (2005). *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease* (7th bas.). Philadelphia, Pa.: Saunders. ss. 1194-1195. ISBN 0-7216-0187-1
- [45] DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin North Am* 2004;88:787-835, ix.
- [46] Kaaks R. Nutrition, hormones, and breast cancer: is insulin the missing link? *Cancer Causes Control* 1996;7:605-25. 1, 1996
- [47] Kazer RR. Insulin resistance, insulin-like growth factor I and breast cancer: a hypothesis. *Int J Cancer* 1995;62:403-6.
- [48] Susanna C. Larsson, Christos S. Mantzoros and Alicja Wolk Diabetes mellitus and risk of breast cancer: A meta-analysis *Int. J. Cancer:* 121, 856-862 (2007) Wiley-Liss, Inc.
- [49] Chappell J, Leitner JW, Solomon S, Golovchenko I, Goalstone ML, Draznin B. Effect of insulin on cell cycle progression in MCF-7 breast cancer cells. Direct and potentiating influence. *J Biol Chem* 2001;276:38023-8.
- [50] van der Burg B, Rutteman GR, Blankenstein MA, de Laat SW, van Zoelen EJ. Mitogenic stimulation of human breast cancer cells in a growth factor-defined medium: synergistic action of insulin and estrogen. *J Cell Physiol* 1988;134:101-8.
- [51] Papa V, Belfiore A. Insulin receptors in breast cancer: biological and clinical role. *J Endocrinol Invest* 1996;19:324-33.
- [52] Belfiore A, Frittitta L, Costantino A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Goldfine ID, Vigneri R. Insulin receptors in breast cancer. *Ann NY Acad Sci* 1996;784:173-88.
- [53] Hancock RE, Chapple DS: Peptide antibiotics, *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1317.
- [54] Hancock RE, Lehrer R: Cationic peptides: a new source of antibiotics, *Trends Biotechnol* 1998;6:82.
- [55] Stolzenberg ED, Anderson GM, Ackermann MR, Whitlock RH, Zasloff M: Epithelial antibiotic induced in states of disease, *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:8686.

- [56] Travis SM, Singh PK, Welsh MJ: Antimicrobial peptides and proteins in the innate defense of the airway surface, *Curr Opin Immunol* 2001; 13:89.
- [57] Giacometti A, Cirioni O, Del Prete MS, Paggi AM, D'Errico MM, Scalise G: Combination studies between polycationic peptides and clinically used antibiotics against Gram-positive and Gram-negative bacteria, *Peptides* 2001;21:1155.
- [58] Patrzykat A, Zhang L, Mendoza V, Iwama GK, Hancock RE: Synergy of histone-derived peptides of coho salmon with lysozyme and flounder pleurocidin, *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:1337
- [59] Bals R: Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection, *Respir Res* 2000;1:141.
- [60] Nicolas P, Vanhoye D, Amiche M: Molecular strategies in biological evolution of antimicrobial peptides, *Peptides* 2003;24:1669.
- [61] Ganz T, Lehrer RI: Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications, *Mol Med Today* 1999;5:292.
- [62] Kamysz W, Okroj M, Lukasiak J: Novel properties of antimicrobial peptides, *Acta Biochim Pol* 2003;50:461.
- [63] Giacometti A, Cirioni O, Del Prete MS, Paggi AM, D'Errico MM, Scalise G: Combination studies between polycationic peptides and clinically used antibiotics against Gram-positive and Gram-negative bacteria, *Peptides* 2001;21:1155.
- [64] Hancock RE: Peptide antibiotics, *Lancet* 1997;349:418.
- [65] Brogden KA, Ackermann M, McCray PB Jr, Tack BF: Antimicrobial peptides in animals and their role in host defences, *Int J Antimicrob Agents* 2003;22:465.
- [66] Powers JP, Hancock RE: The relationship between peptide structure and antibacterial activity, *Peptides* 2003;24:1681.
- [67] Hancock RE: The bacterial outer membrane as a drug barrier, *Trends Microbiol* 1997;5:37.
- [68] Scott MG, Gold MR, Hancock RE: Interaction of cationic peptides with lipoteichoic acid and Gram-positive bacteria, *Infect Immun* 1999;67: 6445.
- [69] Madigan MT, Martinko JM, Parker J: *Biology of Microorganisms*, 8. baskı, s. 52, Prentice Hall International Inc., New Jersey, NJ (1997).
- [70] Matsuzaki K: Why and how are peptide-lipid interactions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes, *Biochim Biophys Acta* 1999;1462:1
- [71] Hancock RE, Rozek A: Role of membranes in the activities of antimicrobial cationic peptides, *FEMS Microbiol Lett* 2002;206:143.
- [72] Sawyer JG, Martin NL, Hancock RE: Interaction of macrophage cationic proteins with the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*, *Infect Immun* 1998;56:693.
- [73] Hancock RE: Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials, *Lancet Infect Dis* 2001;1:156.
- [74] La Rocca P, Biggin PC, Tieleman DP, Sansom MSP: Simulation studies of the interaction of antimicrobial peptides and lipid bilayers, *Biochim Biophys Acta* 1999;1462:185.
- [75] Maddox MW, Longo ML: A Monte Carlo study of peptide insertion into lipid bilayers: equilibrium conformations and insertion mechanisms, *Biophys J* 2002;82:244.
- [76] Zhang L, Rozek A, Hancock R E: Interaction of cationic antimicrobial peptides with model membranes, *J Biol Chem* 2001;276:35714.
- [77] Yeaman MR, Yount NY: Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance, *Pharmacol Rev* 2003;55:27.

- [78] Shai Y, Oren Z: From “carpet” mechanism to de-novo designed diastereometric cell-selective antimicrobial peptides, *Peptides* 2001;22:1629.
- [79] Oren Z, Shai Y: Mode of action of linear amphipathic α -helical antimicrobial peptides, *Biopolymers* 1998;47:451.
- [80] Park CB, Kim HS, Kim SC: Mechanism of action of the antimicrobial peptide buforin II: buforin II kills microorganisms by penetrating the cell membrane and inhibiting cellular functions, *Biochem Biophys Res Commun* 1998;244:253.
- [81] Yang L, Harroun TA, Weiss TM, Ding L, Huang HW: Barrel-stave model or toroidal model? A case study on mellitin pores, *Biophys J* 2001;81: 1475.
- [82] Axen A, Carlsson A, Engstrom A, Bennich H: Gloverin, an antibacterial protein from the immune hemolymph of *Hyalophora* pupae, *Eur J Biochem*
- [83] Bateman A, Singh A, Congote LF, Solomon S: The effect of HP-1 and related neutrophil granule peptides on DNA synthesis in HL60 cells, *Regul Pept* 1991;35:135.
- [84] Boman HG, Agerberth B, Boman A: Mechanisms of action on *Escherichia coli* of cecropin P1 and PR-39, two antibacterial peptides from pig intestine, *Infect Immun* 1993;61:2978.
- [85] Engstrom P, Carlsson A, Engstrom A, Tao ZJ, Bennich H: The antibacterial effect of attacins from the silk moth *Hyalophora cecropi* is directed against the outer membrane of *Escherichia coli*, *EMBO J* 1984;3:3347.
- [86] Bierbaum G, Sahl HG: Induction of autolysis of staphylococci by the basic peptide antibiotics pep 5 and nisin and their influence on the activity of autolytic enzymes, *Arch Microbiol* 1985;141:249.
- [87] Velasco M, Diaz-Guerra MJ, Diaz-Achirica P, Andreu D, Rivas L, Bosca L: Macrophage triggering with cecropin A and mellitin-derived peptides induces type II nitric oxide synthase expression, *J Immunol* 1997;158: 4437.
- [88] Yoo YC, Watanabe R, Koike Y et al: Apoptosis in human leukemic cells induced by lactoferricin, a bovine milk protein-derived peptide: involvement of reactive oxygen species, *Biochem Biophys Res Commun* 1997;237: 624.
- [89] Breukink E, Wiedemann I, van Kraaij C, Kuipers OP, Sahl H, de Kruijff B: Use of the cell wall precursor lipid II by a pore-forming peptide antibiotic, *Science* 1999;286:2361.
- [90] Wiedemann I, Breukink E, Van Kraaij C et al: Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II combines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity, *J Biol Chem* 2001;276:1772.
- [91] Andreu D, Rivas L: Animal antimicrobial peptides: an overview, *Biopolymers* 1998;47:415.
- [92] MacFarlane ELA, Kwasnicka A, Hancock RE: Role of *Pseudomonas aeruginosa* PhoP-PhoQ resistance to antimicrobial cationic peptides and aminoglycosides, *Microbiology* 2000;146:2543.
- [93] MacFarlane ELA, Kwasnicka A, Ochs MM, Hancock RE: PhoP-PhoQ homologues in *Pseudomonas aeruginosa* regulate expression of the
- [94] Peschel A, Otto M, Jack RW, Kalbacher H, Jung G, Gotz F: Inactivation of the *dlt* operon in *Staphylococcus aureus* confers sensitivity to defensins, protegrins and other antimicrobial peptides, *J Biol Chem* 1999;274:8405.
- [95] Wang, G., Li, X., Wang, Z., 2009b. APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Res.* 37, D933–D937
- [96] Zweytick, D., Pabst, G., Abuja, P.M., Jilek, A., Blondelle, S.E., Andrä, J., Jerala, R., Monreal, D., Martinez de Tejada, G., Lohner, K., 2006. Influence of N-

- acylation of a peptide derived from human lactoferricin on membrane selectivity. *Biochim. Biophys. Acta* 1758, 1426–1435.
- [97] New strategies for novel antibiotics: peptides targeting bacterial cell membranes. *Gen. Physiol. Biophys.* 28, 105–116.)
- [98] Lohner, K., Blondelle, S.E., 2005. Molecular mechanisms of membrane perturbation by antimicrobial peptides and the use of biophysical studies in the design of novel peptide antibiotics. *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 8, 241–256., Lohner, K., 2009
- [99] Zasloff M: Reconstructing one of nature's designs, *TiPS* 2000;21:236.
- [100] Sabrina Riedl, Dagmar Zweytick, Karl Lohner ; Membrane-active host defense peptides – Challenges and perspectives for the development of novel anticancer drugs
- [101] Bevers, E.M., Comfurius, P., Zwaal, R.F., 1996. Regulatory mechanisms in maintenance and modulation of transmembrane lipid asymmetry: pathophysiological implications. *Lupus* 5, 480–487.
- [102] Bevers, E.M., Comfurius, P., Zwaal, R.F., 1996. Regulatory mechanisms in maintenance and modulation of transmembrane lipid asymmetry: pathophysiological implications. *Lupus* 5, 480–487.
- [103] Zwaal, R.F., Schroit, A.J., 1997. Pathophysiological implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood* 89, 1121–1132.
- [104] Utsugi, T., Schroit, A.J., Connor, J., Bucana, C.D., Fidler, I.J., 1991. Elevated expression of phosphatidylserine in the outer membrane leaflet of human tumor cells and recognition by activated human blood monocytes. *Cancer Res.* 51, 3062–3066.
- [105] Rao, L.V., Tait, J.F., Hoang, A.D., 1992. Binding of annexin V to a human ovarian carcinoma cell line (OC-2008). Contrasting effects on cell surface factor VIIa/tissue factor activity and prothrombinase activity. *Thromb. Res.* 67, 517–531.
- [106] Fadok, V.A., Voelker, D.R., Campbell, P.A., Cohen, J.J., Bratton, D.L., Henson, P.M., 1992. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J. Immunol.* 148, 2207–2216.
- [107] Martin, S.J., Reutelingsperger, C.P., McGahon, A.J., Rader, J.A., van Schie, R.C., LaFace, D.M., Green, D.R., 1995. Early redistribution of plasma membrane phosphatidylserine is a general feature of apoptosis regardless of the initiating stimulus: inhibition by overexpression of Bcl-2 and Abl. *J. Exp. Med.* 182, 1545–1556.
- [108] Albert, M.L., Sauter, B., Bhardwaj, N., 1998. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs. *Nature* 392, 86–89.
- [109]. Zweytick, D., Riedl, S., Rinner, B., Asslaber, M., Schaidler, H., Walzer, S., Novak, A., Lohner, K., 2011a. In search of new targets – the membrane lipid phosphatidylserine – the underestimated Achilles' heel of cancer cells. *Ann. Oncol.* 22 (suppl. 3), iii42–iii43.
- [110] Lohner, K., Latal, A., Lehrer, R.I., Ganz, T., 1997. Differential scanning microcalorimetry indicates that human defensin, HNP-2, interacts specifically with biomembrane mimetic systems. *Biochemistry* 36, 1525–1531.

- [111] Hoskin, D.W., Ramamoorthy, A., 2008. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim. Biophys. Acta* 1778, 357–375.
- [112] Papo, N., Shai, Y., 2005. Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. *Cell. Mol. Life Sci.* 62, 784–790.
- [113] Mader, J.S., Hoskin, D.W., 2006. Cationic antimicrobial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment. *Expert Opin. Investig. Drugs* 15, 933–946.
- [114] Schweizer, F., 2009. Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity. *Eur. J. Pharmacol.* 625, 190–194.
- [115] Kufe, D.W., 2009. Mucins in cancer: function, prognosis and therapy. *Nat. Rev. Cancer* 9, 874–885.
- [116] Carraway, K.L., Price-Schiavi, S.A., Zhu, X., Komatsu, M., 1999. Membrane mucins and breast cancer. *Cancer Control* 6, 613–614.
- [117] Bafna, S., Kaur, S., Batra, S.K., 2010. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells. *Oncogene* 29, 2893–2904.
- [118] Wang, K.R., Yan, J.X., Zhang, B.Z., Song, J.J., Jia, P.f., Wang, R., 2009c. Novel mode of action of polybia-MPI, a novel antimicrobial peptide, in multi-drug resistant leukemic cells. *Cancer Lett.* 278, 65–72.
- [119] Cazet, A., Julien, S., Bobowski, M., Krzewinski-Recchi, M.A., Harduin-Lepers, A., Groux-Degroote, S., Delannoy, P., 2010. Consequences of the expression of sialylated antigens in breast cancer. *Carbohydr. Res.* 345, 1377–1383.
- [120] Risso, A., Zanetti, M., Gennaro, R., 1998. Cytotoxicity and apoptosis mediated by two peptides of innate immunity. *Cell. Immunol.* 189, 107–115.
- [121] Kjellen, L., Lindahl, U., 1991. Proteoglycans: structures and interactions. *Annu. Rev. Biochem.* 60, 443–475
- [122] Sugahara, K., Mikami, T., Uyama, T., Mizuguchi, S., Nomura, K., Kitagawa, H., 2003. Recent advances in the structural biology of chondroitin sulfate and dermatan sulfate. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 13, 612–620.
- [123] Tkachenko, E., Rhodes, J.M., Simons, M., 2005. Syndecans: new kids on the signaling block. *Circ. Res.* 96, 488–500.
- [124] Rabenstein, D.L., 2002. Heparin and heparan sulfate: structure and function. *Nat. Prod. Rep.* 19, 312–331.
- [125] Jayson, G.C., Lyon, M., Paraskeva, C., Turnbull, J.E., Deakin, J.A., Gallagher, J.T., 1998. Heparan sulfate undergoes specific structural changes during the progression from human colon adenoma to carcinoma in vitro. *J. Biol. Chem.* 273, 51–57.
- [126] Kleeff, J., Ishiwata, T., Kumbasar, A., Friess, H., Büchler, M.W., Lander, A.D., Korc, M., 1998. The cell-surface heparan sulfate proteoglycan glypican-1 regulates growth factor action in pancreatic carcinoma cells and is overexpressed in human pancreatic cancer. *J. Clin. Invest.* 102, 1662–1673.
- [127] Safaiyan, F., Lindahl, U., Salmivirta, M., 1998. Selective reduction of 6-O-sulfation in heparan sulfate from transformed mammary epithelial cells. *Eur. J. Biochem.* 252, 576–582.
- [128] Matsuda, K., Maruyama, H., Guo, F., Kleeff, J., Itakura, J., Matsumoto, Y., Lander, A.D., Korc, M., 2001. Glypican-1 is overexpressed in human breast cancer and modulates the mitogenic effects of multiple heparin-binding growth factors in breast cancer cells. *Cancer Res.* 61, 5562–5569.
- [129] Sanderson, R.D., 2001. Heparan sulfate proteoglycans in invasion and metastasis. *Semin. Cell Dev. Biol.* 12, 89–98.

- [130] Fadnes, B., Uhlin-Hansen, L., Lindin, I., Rekdal, O., 2011. Small lytic peptides escape the inhibitory effect of heparan sulfate on the surface of cancer cells. *BMCCancer* 11, 116.
- [131] Zwaal, R.F., Schroit, A.J., 1997. Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. *Blood* 89, 1121–1132.
- [132] Papo, N., Shai, Y., 2005. Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. *Cell. Mol. Life Sci.* 62, 784–790.
- [133] Domagala, W., Koss, L.G., 1980. Surface configuration of human tumor cells obtained by fine needle aspiration biopsy. *Scan. Electron. Microsc.* 3, 101–108.
- [134] Chaudhary, J., Munshi, M., 1995. Scanning electron microscopic analysis of breast aspirates. *Cytopathology* 6, 162–167.
- [135] Chan, S.C., Hui, L., Chen, H.M., 1998. Enhancement of the cytolytic effect of anti-bacterial cecropin by the microvilli of cancer cells. *Anticancer Res.* 18, 4467–4474.
- [136] Leuschner, C., Hansel, W., 2004. Membrane disrupting lytic peptides for cancer treatments. *Curr. Pharm. Des.* 10, 2299–2310.
- [137] Mader, J.S., Salsman, J., Conrad, D.M., Hoskin, D.W., 2005. Bovine lactoferricin selectively induces apoptosis in human leukemia and carcinoma cell lines. *Mol. Cancer Ther.* 4, 612–624.
- [138] Bhutia, S.K., Maiti, T.K., 2008. Targeting tumors with peptides from natural sources. *Trends Biotechnol.* 26, 210–217.
- [139] De Smet K, Contreras R. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnol Lett* 2005; 27: 1337-47
- [140] Froy O. Regulation of mammalian defensin expression by Toll-like receptordependent and independent signalling pathways. *Cell Microbiol* 2005; 7: 1387- 97.
- [141] Bateman A, Singh A, Jothy S, Fraser R, Esch F, Solomon S. The levels and biologic action of the human neutrophil granule peptide HP-1 in lung tumors. *Peptides* 1992;13:133–9.
- [142] Nam MJ, Kee MK, Kuick R, Hanash SM. Identification of defensin alpha6 as a potential biomarker in colon adenocarcinoma. *J Biol Chem* 1992;280:8260–5.
- [143] Muller CA, Markovic-Lipkovski J, Klatt T, Gamper J, Schwarz G, Beck H, et al. Human alpha-defensins HNPs-1, -2, and -3 in renal cell carcinoma: influences on tumor cell proliferation. *Am J Pathol* 2002;160:1311–24
- [144] Lundy FT, Orr DF, Gallagher JR, Maxwell P, Shaw C, Napier SS, et al. Identification and overexpression of human neutrophil alpha-defensins (human neutrophil peptides 1, 2 and 3) in squamous cell carcinomas of the human tongue. *Oral Oncol* 2004;40:139–44.
- [145] Holterman DA, Diaz JI, Blackmore PF, Davis JW, Schellhammer PF, Corica A, et al. Overexpression of alpha-defensin is associated with bladder cancer invasiveness. *Urol Oncol* 2006;24:97–108.
- [146] Beck H, et al. Human alpha-defensins HNPs-1, -2, and -3 in renal cell carcinoma: influences on tumor cell proliferation. *Am J Pathol* 2002;160:1311–24 Melle C, Ernst G, Schimmel B, Bleul A, Thieme H, Kaufmann R, et al. Discovery and identification of alpha-defensins as low abundant, tumor-derived serum markers in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2005;129:66–73.
- [147] Li J, Zhao J, Yu X, Lange J, Kuerer H, Krishnamurthy S, et al. Identification of biomarkers for breast cancer in nipple aspiration and ductal lavage fluid. *Clin Cancer Res* 2005;11:8312–20

- [148] Melle C, Ernst G, Schimmel B, Bleul A, Thieme H, Kaufmann R, et al. Discovery and identification of alpha-defensins as low abundant, tumor-derived serum markers in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2005;129:66–73.
- [149] Albrethsen J, Møller CH, Olsen J, Raskov H, Gammeltoft S. Human neutrophil peptides 1, 2 and 3 are biochemical markers for metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2006;42:3057–64.
- [150] Adrian F. Gombart,*¹ Niels Borregaard,† and H. Phillip Koeffler* Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25- dihydroxyvitamin D3 *The FASEB Journal* 1068 Vol. 19 July 2005.
- [151] Coffelt SB, Waterman RS, Florez L, et al. Ovarian cancers overexpress the antimicrobial protein hCAP- 18 and its derivative LL-37 increases ovarian cancer cell proliferation and invasion. *Int J Cancer* 2008;122: 1030–9.
- [152] Von Haussen J, Koczulla R, Shaykhiev R, et al. The host defence peptide LL-37/hCAP-18 is a growth factor for lung cancer cells. *Lung Cancer* 2008;59:12–23.
- [153] Bullard RS, Gibson W, Bose SK, Belgrave JK, Eaddy AC, Wright CJ, et al. Functional analysis of the host defense peptide Human Beta Defensin-1: new insight into its potential role in cancer. *Mol Immunol* 2008;45:839–48.
- [154] Donald CD, Sun CQ, Lim SD, Macoska J, Cohen C, Amin MB, et al. Cancer-specific loss of beta-defensin 1 in renal and prostatic carcinomas. *Lab Invest* 2003;83:501–5.
- [155] M.J. Sheetz, G.L. King, Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications, *JAMA* 288 (2002) 2579–2588.
- [156] Holick M. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007;357:266–281

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Sercan KAPANCIK
Doğum Yeri ve Tarihi	Bursa-1988
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, 58140-Sivas
E-posta Adresi	kapancik.sercan@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Bursa Yıldırım Beyazıt Lisesi, 2004
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği, 2011



C. Ü. TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

Sayın ...

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı ” Tip-2 Diyabetli ve Meme Kanseri Hastalarında İnsan Antimikrobiyal Katyonik Peptitlerin Düzeylerinin Araştırılması”

Bu çalışmamızın amacı, HNP-4, HNP-3, HBD-1, HBD-3, LL-37 tayininin yapılması ile bu parametrelerin hastalıkların oluşumu ve seyri açısından önemini belirlemesidir. Araştırmamıza tip-2 Diyabetli kadın hastalar, Tip-2 Diyabeti olan ve Tip-2 Diyabeti olmayan Meme Kanseri tanısı konmuş kadın hastalar ve herhangi bir sistemik rahatsızlığı bulunmayan 19 gönüllü kadın birey dahil edilecektir. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya dahil olmak için bir defa yaklaşık 10 mL kan vermeniz yeterli olacaktır. Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: 1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz. 2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması riski vardır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız.

Çalışmamıza katılmamız halinde meme kanseri hastalığı hakkında bilim dünyasına yeni bilgiler kazanılmasına aracılık etmiş olacaksınız. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 0 346 219 10 10/1492 numaralı telefondan araştırmacı Doç.Dr.V.Kenan ÇELİK 'e başvurabilirsiniz.

Bu araştırma CÜBAP tarafından desteklenmektedir. Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlanırsa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı: Gönüllüden bu kısmı kendi el yazısıyla yazması istenecektir.

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,
Adı-Soyadı:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,
Adı-Soyadı:
Görevi:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,
Adı-Soyadı:
Görevi:
Adresi:
Tel.-Faks:
Tarih ve İmza:

* Bu örnek form araştırmacılar için fikir vermek için formda bulunması gereken asgari bilgiler verilerek hazırlanmıştır, gerektiğinde eklemeler yapılmalıdır. İstendiğinde Etik Kurul sekreterliğinden ya da Tıp Fakültesi web sayfasından temin edilerek ve üzerinde gerekli düzenlemeler yapılmak suretiyle kullanılabilir (ör. bu paragraf, metindeki noktalı kısımlar ve parantezler çıkarılmalı ve uygun şekilde düzenlenmelidir). Gönüllünün beyan ve imzası, bilgilendirme metninin devamı şeklinde olmalıdır; **kesinlikle ayrı sayfalarda olmamalıdır**. Konuyla ilgili olarak C.Ü. Tıp Fakültesi Etik Kurul yönergesi okunmalıdır.