



ÇEŞİTLİ YÖRELERDEN TOPLANAN BİTKİ
EKSTRAKTLARININ ANTİTÜMORAL AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Bahar YILMAZ

TÜMÖR BİYOLOJİSİ VE İMMÜNOLOJİSİ ANABİLİMDALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Berna ERDAL YILDIRIM

Tez No: 2018/36- TEKİRDAĞ

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÇEŞİTLİ YÖRELERDEN TOPLANAN BİTKİ
EKSTRAKTLARININ ANTİTÜMÖRAL AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Bahar YILMAZ

TÜMÖR BİYOLOJİSİ VE İMMÜNOLOJİSİ ANABİLİMDALI

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Berna ERDAL YILDIRIM

**Bu Tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından NKUBAP.02.YL.17.125 proje numarası ile desteklenmiştir.**

TEKİRDAĞ-2018

KABUL ve ONAY

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde Dr. Öğr. Üyesi Berna ERDAL YILDIRIM danışmanlığında
yürütülmüş bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak
kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

04.07.2018

Doç. Dr. Dumrul GÜLEN

Namık Kemal Üniversitesi

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Zeynep Banu DOĞANLAR

Dr. Öğr. Üyesi Berna ERDAL YILDIRIM

Trakya Üniversitesi

Namık Kemal Üniversitesi

Üye

Üye

Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Bahar YILMAZ' ın “Çeşitli Yörelere Toplanan Bitki Ekstraktlarının Antitümoral Aktivitelerinin Araştırılması” başlıklı tezi 04.07.2018 günü saat 13.30’ da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nilda TURGUT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince her zaman yanımda olan, desteğini esirgemeyen, güvendiğim, danıştığım, emeklerini asla unutamayacağım akademik duruşu ve karakteri açısından örnek olarak aldığım, tez çalışmamın gerçekleşmesinde bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, danışman hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Berna ERDAL YILDIRIM' a,

Lisansüstü öğrenimim boyunca bilimsel ve manevi yönden yetişmemde anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Burhan TURGUT' a

Akademik çalışmalarımın her bir aşamasında bilgi ile yolumu aydınlatan, iyilik ve anlayış ile heyecanıma ortak olan, her konuda desteği ile beni yönlendirerek desteklerinin esirgemeyen değerli hocalarım sayın Doç. Dr. Dumrul GÜLEN ve Arş. Gör. Dr. Mine AYDIN KURÇ' a,

Tez çalışmamdaki istatistiksel verileri değerlendirmemde engin tecrübe ve bilgilerini paylaşan değerli hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Birol Topçu' ya

Çalışmanın çeşitli analizlerini yapmamda destek ve yardımcı olan Namık Kemal Üniversitesi Rektörlüğüne bağlı olarak faaliyet gösteren Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi (NABİLTEM) personeli sayın Öğr. Gör. SERTAÇ ATALAY ve Öğr. Gör. DUYGU KORUCU' ya

Çalışmamızı destekleyen Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi' ne

Desteği ve sabrı için eşime, ailesine ve çalışmalarımda beni yalnız bırakmayan kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Yılmaz B. Çeşitli Yörelere Toplanan Bitki Ekstraktlarının Antitümoral Aktivitelerinin Araştırılması, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 2018. Kanser tedavisinde en çok tercih edilen yöntemlerden biri olan kemoterapinin sahip olduğu bazı dezavantajlar, tedavinin başarı yüzdesini düşürmektedir. Bu yüzden bitkisel ürünlerin antikanser etkinliğinin araştırılması son dönemlerde ilgi çeken çalışma alanlarından birisi haline gelmiştir.

Bu çalışmada; propolis ve kurkumin ekstraktları ile sisplatin, meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerine hem tek tek hem de kombin şeklinde uygulanarak antitümoral etkinlikleri incelenmiştir. Hücreler üzerindeki sitotoksik etkileri belirleyebilmek için MTT testi, apoptozis süreçlerini belirleyebilmek için ise Annexin V/PI flow sitometrik boyama yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmamızda; MCF-7 hücre canlılığında kontrole göre en belirgin azalmanın sisplatin için 100 µg/ml, kurkumin için 5 µg/ml ve propolis için 160 µg/ml dozunda olduğu tespit edilmiştir. Apoptotik hücre oranları da MTT sonuçları ile benzer bulunmuştur. Kombin çalışmalarında kontrole göre en yüksek apoptotik hücre oranının sisplatin+propolis birlikteliğinde olduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak; klasik kanser tedavisine ek olarak kurkumin ve propolis ekstraktlarının kanser hücre hatları üzerine etkilerinin invitro çalışmalar ile araştırılması ve bu sonuçların invivo deneylerle desteklenmesi gerekmektedir. Bu çalışmaların klinik çalışmaların önünü açabileceği ve Tamamlayıcı ve Alternatif Tedaviye yeni bir umut olabileceği kanısındayız.

Anahtar kelimeler: Bitki, kanser, fitoterapi, kemoterapi, antitümör.

ABSTRACT

Yılmaz, B. Investigation of Antitumoral Activity of Plant Extracts Collected from Various Regions, Namık Kemal University, Institute of Health Sciences, Department of Tumor Biology and Immunology Master Thesis, Tekirdag, 2012. Some disadvantages of chemotherapy, which is one of the most preferred methods in cancer treatment, decrease the success rate of treatment. Therefore, the search for anticancer activity of herbal products has recently become one of the areas of interest.

In this study; propolis and kurkumin extracts and cisplatin on the breast cancer cell line (MCF-7), both individually and in combination. MTT assay was used to determine the cytotoxic effects on the cells, and Annexin V / PI flow cytometric staining method was used to determine apoptosis processes.

In our study; The most significant reduction in MCF-7 cell viability was found to be 100 µg / ml for cisplatin, 5 µg / ml for kurkumin and 160 µg / ml for propolis. Apoptotic cell ratios were also found to be similar to MTT results. The highest proportion of apoptotic cells in the combinatorial study was found to be in the presence of cisplatin + propolis.

As a result; In addition to classical cancer treatments, the effects of keratin and propolis extracts on cancer cell lines should be investigated by in vitro studies and these results should be supported by in vivo experiments. We believe that these studies may pave the way for clinical trials and complementary and alternative therapies.

Key words: Plant, cancer, phytotherapy, chemotherapy, antitumor.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Meme Kanseri	3
2.2. Meme Kanserinde Tedavi Yöntemleri	7
2.3. Fitoterapi	10
2.4. Sisplatin	12
2.5. Kurkumin.....	14
2.6. Propolis.....	15
2.7. Apopitoz	17
2.7.1. Dışsal Yolak.....	18
2.7.2. İçsel Yolak	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	19
3.2. Uygulanan Yöntemler	22
3.2.1. Hücre Hattı.....	22
3.2.2. Hücre Hattı Besiyeri.....	23
3.2.3. Hücrelerin Kültüre Alınması.....	25

3.2.4. Hücrelerin Pasajlanması.....	25
3.2.5. Hücrelerin Dondurulması	26
3.2.6. Trypan Mavisi Yöntemi ile Hücrelerin Boyanması.....	26
3.2.7. Propolis Ekstraksiyonu ve Stok Hazırlanması	27
3.2.8. Kurkumin Stok Çözeltilisinin Hazırlanması	27
3.2.9. Sisplatin Stok Çözeltilisinin Hazırlanması.....	27
3.2.10. Hücre Canlılık Testi	27
3.2.11. Hücre Apoptoz Testi	28
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	30
4. BULGULAR.....	31
4.1. MTT Hücre Canlılık Testi Sonuçları.....	31
4.1.1. Sisplatin MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi	31
4.1.2. Kurkuminin MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi.....	33
4.1.3. Propolisin MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi.....	35
4.1.4. Propolis, Kurkumin ve Sisplatin' in Birlikte Uygulanması.....	37
4.2. AnnexinV/FITC Hücre Apoptozis Analizleri	39
4.2.1. Sisplatin Apoptozis Sonuçları.....	39
4.2.2. Kurkumin Apoptozis Sonuçları	41
4.2.3. Propolis Apoptozis Sonuçları	44
4.2.4. Propolis, Kurkumin ve Sisplatin Birlikte Uygulandığı Dozların Apoptozis Sonuçları.....	46
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Meme kanseri anatomisi	3
Şekil 2. 2. Meme kanseri risk faktörleri	6
Şekil 2. 3. Meme kanserinde tedavi yöntemleri	9
Şekil 2. 4. İlaç endüstrisinde kullanılan bazı sekonder metabolitlerin kimyasal yapısı	11
Şekil 2. 5. Sisplatinin moleküler yapısı.....	13
Şekil 2. 6. Sisplatinin fizikokimyasal özellikleri	13
Şekil 2. 7. Kurkuminin moleküler yapısı	14
Şekil 2. 8. Apoptoz ve Nekroz arasındaki farklar	17
Şekil 2. 9. Dışsal ve İçsel apoptotik yollar	19
Şekil 3. 1. MCF-7 İnsan meme kanseri hücrelerinin invert mikroskopu altındaki görüntüsü (40 X büyütme ile)	22
Şekil 3. 2. Thoma lamında Trypan mavisi ile boyanan ve/veya boyanmayan MCF-7 hücreleri.....	26
Şekil 3. 3. AnnexinV FITC/ PI Flow sitometri görüntüsü	30
Şekil 4. 1. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Sisplatin konsantrasyonlarının MTT hücre canlılık testi yüzdeleri	32
Şekil 4. 2. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Kurkumin konsantrasyonlarının MTT hücre canlılık testi yüzdeleri	34
Şekil 4. 3. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Propolis konsantrasyonlarının MTT hücre canlılık testi yüzdeleri	36
Şekil 4. 4. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Sisplatin+Kurkumin+Propolis konsantrasyonlarının MTT canlılık testi yüzdeleri	38
Şekil 4. 5. A) MCF-7 hücrelerinde Sisplatin konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Sisplatin AnnexinV/FITC grafiği	41

Şekil 4. 6. A) MCF-7 hücrelerinde Kurkumin konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Kurkumin AnnexinV/FITC grafiği..... 44

Şekil 4. 7. A) MCF-7 hücrelerinde Propolis konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Propolis AnnexinV/FITC grafiği..... 46

Şekil 4. 8. A) MCF-7 hücrelerinde Kurkumin+Propolis+Sisplatin konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Kurkumin+Propolis+Sisplatin AnnexinV/FITC grafiği..... 48



TABLolar DİZİNİ

Tablo 2. 1. Uluslararası Kanseri Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine göre Kadınlarda En Sık Görülen İlk Beş Kanserin Dağılımı Türkiye Birleşik Veri Tabanı.....	4
Tablo 2. 2. Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanseri Türünün Toplam Kanseri İçindeki Dağılımı (%).....	5
Tablo 2. 3. BI-RADS kategorileri.....	7
Tablo 2. 4. Meme kanserinin evrelendirilmesi.....	8
Tablo 2. 5. Fitoterapide kullanılan bazı kavram ve tanımlar.....	12
Tablo 2. 6. Propolisin kimyasal bileşenleri.....	16
Tablo 3. 1. Çalışmada kullanılan cihazlar, markaları ve menşei.....	20
Tablo 3. 2. Çalışmalarda kullanılan sarf ve diğer malzemeler, markaları ve menşei.....	21
Tablo 3. 3. Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içeriği.....	23
Tablo 3. 4. Hücre apoptoz testinde kontrol tüpleri.....	30
Tablo 4. 1. 1.56-100 µg/ml doz aralıklarında Sisplatin uygulamasının MCF-7 hücre canlılığına etkisi.....	33
Tablo 4. 2. 0.08-5 µg/ml doz aralıklarında Kurkumin uygulamasının MCF-7 hücre canlılığına etkisi.....	35
Tablo 4. 3. 2.5-160 µg/ml doz aralıklarında Propolis uygulamasının MCF-7 hücre canlılığına etkisi.....	37
Tablo 4. 4. Sisplatin+Kurkumin+Propolis dozlarının MCF-7 hücre canlılığına etkisi.....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Apaf-1: Apoptotik proteaz aktive edici faktör-1

BIRADS: Breast Imaging Reporting and Data System

Caco-2: Kolon kanseri hücreleri

CARDs: Kaspaz aktivasyonu görevlendirme bölgeleri

CD95/APO-1: Fas ligand

DISC: Öldürücü sinyal kompleksi

DMEM: Dulbecco's Modified Eagle Medium

DMSO: Dimetil sülfoksit

DU-145: Androjen-duyarlı prostat kanser hücreleri

EAT: Ehrlich asit tümörü

FADD: Fas reseptörünün Fas ilişkili ölüm domaini

FASr: Fas reseptörü

FBS: Fetal Sığır Serumumu

FDA: Food and Drug Administration

HeLa: Servikal kanser hücreleri

Hep-2: İnsan Laringeal Epidermoid Karsinoma

Hep-G2 ve SK-HEP-1: Hepatoselüler karsinoma hücreleri

HER-2: Human epidermal growth factor receptor 2

HIPEC: Hipertermal intraperitoneal kemoterapi

IARC: Uluslararası Kanser Ajansı

IC50: %50 inhibitör konsantrasyon

JNK: c-Jun N-terminal kinase

KB: İnsan ağız epidermoid karsinoma hücreleri

LD₅₀: Letal doz 50

LLC-PK1: kidney proximal tubule cell line

MCF-7: Meme kanseri hücre hattı

MTT: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür

NF- κ B: Nuclear factor kappa B

PBS: Phosphate-buffered saline

Pt: Platin

RIP: Reseptör interaktif protein

rpm: Rotor per minute

TAT: Tamamlayıcı ve alternatif tedavi

TNF: Tümör nekroz faktörü

TNFr: Tümör nekroz faktör reseptörü

TRADD: TNFR-1 ilişkili ölüm domaini

WHO: Dünya Sağlık Örgütü



1. GİRİŞ

Kanser, düzenli olarak hücrelerin çoğalmasını sağlayan hücre döngüsü kontrolünün ortadan kalkması ve/veya azalmış apoptoz nedeniyle ortaya çıkan patolojik bir durumdur (Kuno 2012). Kontrolü bozulan bu hücreler hızla yayılıp yakınlardaki dokuları istila ederek metastaz yapabilirler (Siegel 2016). Kanseri oluşturan nedenlerin % 5-10 genetik, % 90-95 çevreseldir. Çevresel faktörler arasında en önemli nedenlerden biri tütün ve tütün ürünleri (%30-35) kullanımudur. Sigara dışındaki en önemli kanser nedeni ise beslenme ile ilgili alışkanlıklardır (Kushi 2006, Czene 2002, Anand 2008). Genetik temelli kanser vakalarında moleküler testler yapılarak tüm aile bireylerinin bilinçlendirilmesi ve farkındalık yaratılması önemli bir basamaktır (Güran 2005).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre ölümlerin %63'ü kanser ile ilişkilidir (Monteiro 2014). Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı'nın verilerine göre, bir günde yaklaşık olarak 450 kişi kanser tanısı almaktadır (anonim2017a THSK). Ulaşılabilen en güncel kanser istatistikleri (2014 yılına ait) tüm yaş gruplarında en sık görülen kanser türleri cinsiyetlere göre ayrı ayrı incelenerek 2017 yılında yayınlanan raporda yer almaktadır. Bu rapora göre erkeklerde en sık görülen kanser tipleri sırasıyla trakea-bronş-akciğer kanseri, prostat, kolorektal, mesane, mide, non-hodgkin lenfoma, böbrek, larinks, tiroid, beyin-sinir sistemi kanserleri; kadınlarda ise meme, tiroid, kolorektal, uterus-korpus, trakea-bronş-akciğer, mide, over, non-hodgkin lenfoma, uterus-serviks, beyin-sinir sistemi kanserleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Anonim 2017b).

Meme kanseri, lobul ile terminal duktus birleşme yerindeki epitelden köken alan bir adenokarsinomdur. Meme kanseri (invaziv duktal kanser) gelişmeden önce duktus epiteli, atipik duktal hiperplazi, duktal karsinoma insitu gibi evrelerden geçerek oluşur. (Aydıntuğu 2004). Toplumda, "her 8 kadından birinde meme kanseri gelişir" ifadesi bir kadının yaşamı süresince invaziv meme kanseri gelişme riskinin %13,3 olması ile açıklanabilir (Phillips 1999). Türkiye'de meme kanserine yakalanan kadın sayısı 1999 yılında 8.879 iken, 2003 yılında 12.772'ye yükselmiştir. Ülkemizde tüm kanserlerin %24,1' ini meme kanserlerinin oluşturduğu

bildirilmektedir (Köroğlu 2004). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar ile meme kanserinin gelişimi açısından birçok risk faktörü belirlenmiştir. Bu riskler toplumlar arasında; yaşanan bölge, çevrede kişinin maruz kaldığı etkenler ve diyet alışkanlıkları gibi faktörlerden oluşmaktadır (Morrow 1999).

Kanserde hastaların sağ kalım oranları, tarama programları sayesinde erken tanı ve etkili tedaviler ile artmıştır (Hewitt 2006, Stewart 2017). Kanser tedavilerindeki amaç tümörü ortadan kaldırıp, tedavilerin toksik etkisini en aza indirmektir (Stefani 2017). Günümüzde kanserle mücadelede başvurulan temel tedavi yöntemleri arasında; cerrahi girişim, kemoterapi, radyoterapi, hormon replasmanı ve immunoterapi yer almaktadır. Kemoterapi, kanserle mücadelede sıklıkla başvurulan bir metottur. Fakat kemoterapideki bazı dezavantajlar (tedaviye yanıt alınamaması, ciddi toksisite ve çoklu ilaç direnci) başarı yüzdesini düşürmektedir (Tan 2011). Ayrıca onkoloji ve farmakoloji alanının hala çözemediği bir problem de bazı kanser hücrelerinin farmakolojik ajanlarla bile apoptoza yönlendirilememesidir. Bu yüzden antikanser ilaçlara karşı olan direnci kırabilmek için yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. İşte bu noktada doğal ürünlerin kanserli hücrelerde apoptoz ve sinyal yolları üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar ivme kazanmıştır (Fulda 2010).

Bitkilerin ürettiği doğal ürünler olan primer ve sekonder metabolitler doğrudan ve dolaylı olarak endüstride yerini almıştır. Bitkilerin tedavide kullanımları insanlık tarihiyle birlikte başlamıştır. Binlerce yıl önce insan, bitkilerin tedavi edici gücünü tanımış ve sağlıklı yasayabilmek için ondan yararlanmıştır. Halk hekimliği uygulamalarına yaygın olarak rastlanan Anadolu'da tedavi amaçlı kullanılan bitkilere, günümüzde de kullanılmaya devam edilmektedir. Modern tıpta kullanılan pek çok ilaç da bitkilerden elde edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011).

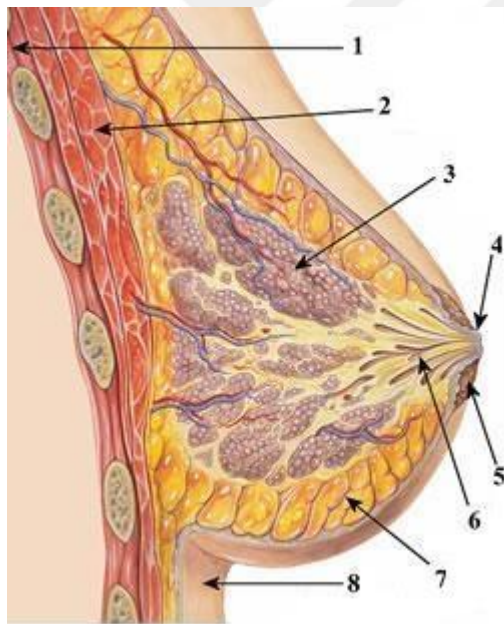
Bu çalışmada; çeşitli bitki ekstraktlarının (Propolis ve Kurkumin), meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerine anti tümöral aktivitelerinin belirlenmesi

amaçlanmaktadır. Ayrıca kemoterapötik bir ilaç olan sisplatinin tek başına etkilerinin yanı sıra bitki ekstraktları ile kombine edildiğinde antagonistik ve/veya sinerjistik etkilerinin araştırılması planlanmaktadır. Çalışma sonunda elde edilen veriler doğrultusunda, klasik kanser tedavisine ek olarak bitkilerden hazırlanan drogların klinisyenlerin planladığı tedavi protokolüne destek olması hedeflenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Meme Kanseri

Meme; kadınlarda süt üretimi için düzenlenmiş ve farklılaşmış bir tubuloalveolar ter bezidir (Aydıntuğu2008). Toraksın üzerinde ve sternumun iki yanında 2. ve 6. kostalar arasında yer alır. Meme; lobüller (süt bezleri) ve ductuslar (süt kanalları) olmak üzere iki kısımdan oluşur. Bu iki yapı arasındaki boşluğu destek ve yağ dokusu doldurmaktadır (Şekil 2. 1)



- | |
|--|
| 1- Gövde, kabugalar (THORAX) |
| 2- Göğüs kasları (Pectoralis major + pectoralis minor) |
| 3- Süt bezleri (Lobus Grandulae mammaeiae) |
| 4- Meme ucu (Papilla mammaeiae) |
| 5- Areola |
| 6- Süt kanalları(Ductus lactiferi) |
| 7- Yumuşak yağ doku (Corpus adiposum mammae) |
| 8- Deri |

Şekil 2. 1. Meme kanseri anatomisi

Meme kanserleri lobüller ve ductuslar arasındaki epitelden kaynaklanan adenokarsinomlardır. İn situ ve invaziv karsinomlar olmak üzere meme karsinomları histolojik olarak iki ana gruba ayrılır (İlvan 2006). Meme kanserlerinde bu histolojik tipler iyi veya kötü prognozu gösterebilir. Tübüler, kribriform, müsinöz, medüller, invaziv lobüler ve papiller kanser iyi prognozu, meta plastik (sarkomatoid tip)

inflatuar ve lipidden zengin kanser ise kötü prognozu göstermektedir (Tavassoli 2003).

Bazal membrandan bağ dokuya geçen süt kanalları ile sınırlı tümör hücreleri kan damarları ve lenfatiklerle karşılaştıklarında burada beslenerek metastaz yapma yeteneği kazanırlar. Fakat her tümör hücresi aynı oranda büyüüp metastaz yapmaz. Örneğin bazı tümörler çok küçük çaplara sahipken metastaz yapar, bazıları ise 3-4 cm çapa ulaşsa bile metastaz yapmazlar (Aydıntuğu 2004). Meme kanserinin bölgesel olarak en sık yayıldığı alanlar aksiller lenf zinciri, mamma interna lenf zinciri ve supraklavikuler lenf bezi gruplarıdır. Bu bölgelerdeki tutulumlarının iyi bilinmesi ve belirlenmesi hem doğru evreleme hem de uygun tedavi yöntemlerinin planlanması açısından büyük önem taşımaktadır (Nemoto 1983). Meme karsinomları tümörün çeşidi ve evresine göre tedavi edilmediği takdirde uzak doku ve organ metastazları yaparak ölümlere neden olabilmektedir (Aydıntuğu 2004). Erkeklerde nadir olarak görülen meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen malignitedir. GLOBACAN 2012 verilerine göre gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda en sık ölüm nedeni olarak karşımıza meme kanserleri çıkmaktadır (Ferlay 2015). Tablo 2. 2'de kadınlarda en sık görülen ilk 5 kanserin dağılımı özetlenmiştir.

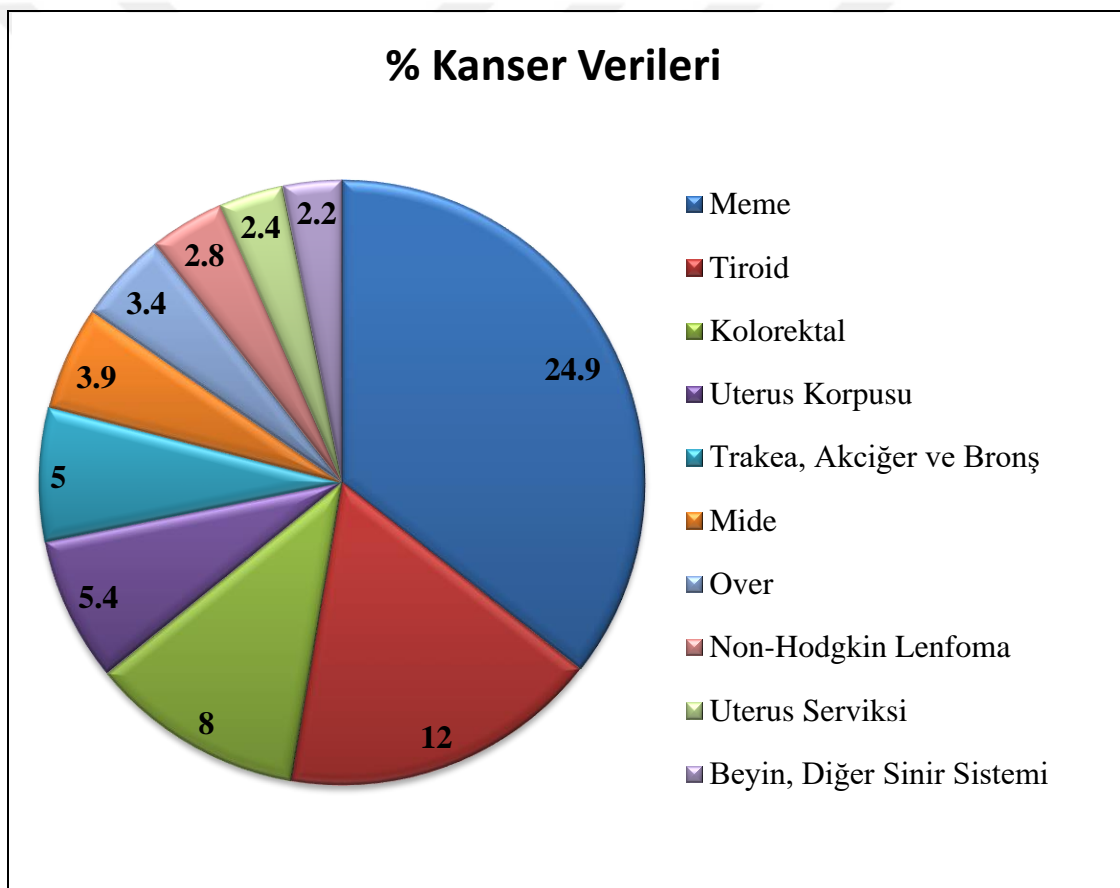
Tablo 2. 1. Uluslararası Kanser Ajansı (IARC) Tarafından Yayınlanan Globocan 2012 Verilerine göre Kadınlarda En Sık Görülen İlk Beş Kanserinin Dağılımı Türkiye Birleşik Veri Tabanı

(Türkiye Halk Sağlığı Kurumu 2009 Kanser Tarama Kısa Raporu 2016).

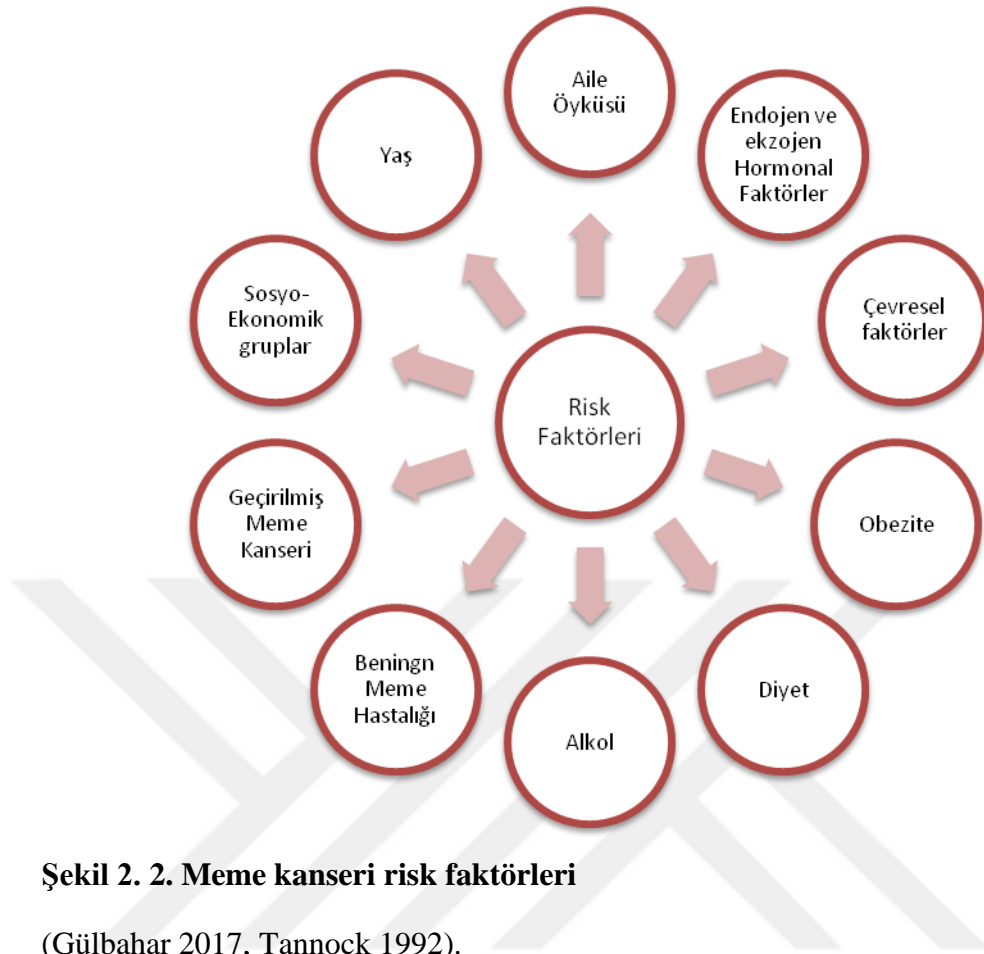
Türkiye	Dünya	IARC' a üye 24 ülke	AB(28 ülke)	ABD
Meme	Meme	Meme	Meme	Meme
Tiroid	Kolorektal	Kolorektal	Kolorektal	Akciğer
Kolorektal	Uterus serviksi	Akciğer	Akciğer	Kolorektal
Uterus korusu	Akciğer	Uterus serviksi	Uterus korusu	Tiroid
Akciğer	Uterus korusu	Uterus korusu	Uterus serviksi	Uterus korusu

Kanser verileri incelendiğinde 2035’de dünya da neredeyse 15 milyon insanın kanser nedeni ile ölebileceği tahmin edilmektedir (GLOBACAN 2012). Kadınlarda görülen kanser çeşitlerinde istatistiksel verilere bakıldığında gerek dünya çapında gerekse ülkemizde en fazla görülen ve ölümlere neden olan kanserin meme kanseri olduğu tespit edilmiştir (<http://kanser.gov.tr/.01,032018>). Uluslararası Kanser Ajansı (IARC), meme kanserindeki artışa dikkat çekmektedir (Costa 2016). Ülkemizde ise kadınlarda en sık görülen 10 kanser türünün verileri aşağıdaki tabloda (Tablo 2. 2) yüzdeleri ile birlikte gösterilmektedir(Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2016).

Tablo 2. 2. Kadınlarda En Sık Görülen 10 Kanser Türünün Toplam Kanser İçindeki Dağılımı (%)



Meme kanserlerinde tek bir risk faktöründen söz etmek doğru değildir. Her toplumda değişkenlik gösteren belirli risk faktörleri vardır (şekil 2. 3). Bu risk faktörlerinin bilinmesi, kansere bağlı mortalite ve morbidite oranlarının azalmasına neden olabilir (Holland 1982).



Şekil 2. 2. Meme kanseri risk faktörleri

(Gülbahar 2017, Tannock 1992).

Postmenapoz döneminde görülen meme kanseri yakalanma yaşı gün geçtikçe düşüş göstermektedir. Bu sebeple yapılan erken tanı ve tarama programlarının yaş aralığının değiştirilmesinin daha uygun olacağı düşünülmektedir (Elmore 2005). 50-75 yaş arasındaki kadınlara uygulanan mamografi, meme kanserinin klinik takibi açısından önem arz etmektedir (Welch 2010, Humphrey 2002). T.C. Sağlık Bakanlığı Kansere Savaş Dairesi Başkanlığı 2004 yılında meme kanseri için farkındalığın artırılması ve taramaların ulusal düzeyde oluşturulması için bazı standartlar yayınlamıştır. Bu standartlara göre 50-69 yaş arasındaki kadınlarda 2 yılda bir çift yönlü mamografi çekilmesi önerilmiştir (Anonim 2018).

Yapılan taramalar (mamografi ve meme usg) doğrultusunda sonuçlar BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) adı verilen ve meme kanseri riskini gösteren ölçüğe göre değerlendirilir (Ulus 2007).

Tablo 2. 3. BI-RADS kategorileri

(Ulus 2007, Bakanlığı, T.C.S., Türkiye Kadın Sağlığı Araştırması. 2014: Ocak).

BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) leği	
Katagoriler	Değerlendirme
0	Ek tetkik gerektirenler
1	Normal mamografi
2	Benign bulgular
3	Büyük olasılıkla benign
4	şüpheli anormallikler (biyopsi yapılması dşnlmelidir)
5	Malign olasılığı çok yüksek lezyonlar (gerekli işlemler yapılmalıdır)

Meme kanserinin belirtileri kişiden kişiye değişim gösterebilmektedir. Bu belirtiler kitle, ağrı, meme başında çekilme ve akıntı, forgue belirtisi, pau d'orange (portakal kabuğu görüntüsü), meme derisinde kaşıntı, ülser, dem ve eritem, koltuk altında kitle şeklinde gözlenmektedir(Parlar 2005, Kürkçü 2008).

2.2. Meme Kanserinde Tedavi Yöntemleri

Meme kanserinin belirtileri kişiden kişiye değişim gösterebilmektedir. Bu belirtiler kitle, ağrı, meme başında çekilme ve akıntı, forgue belirtisi, pau d'orange (portakal kabuğu görüntüsü), meme derisinde kaşıntı, ülser, dem ve eritem, koltuk altında kitle şeklinde gözlenmektedir(Parlar 2005, Kürkçü 2008).

Meme kanserinde yukarıda saydığımız belirtiler doğrultusunda kişinin kendi kendine muayenesi, erken tanı ve tarama programları sayesinde evrelere uygun tedavi yöntemi uygulanır. Tablo 2. 4' de meme kanserinin evrelendirilmesi hakkında bilgi verilmiştir (Karabaş 2013). Tabloya göre; T: Tümörün boyutunu, N: Lenf bezini, M: metastazı göstermektedir.

Tablo 2. 4. Meme kanserinin evrelendirilmesi

Evre	Evrelerin Yorumlanması
TX	Tümörün boyutu belirlenmemiştir.
T0	Tümör belirtisi yok.
TİS	Kanser LCIS, DCIS ya da Tümör olmayan meme başının Paget Hastalığı türündendir.
T1	Tümör çapı 2cm ya da daha azdır.
T2	Tümör çapı 2-5 cm arasındadır.
T3	Tümör çapı 5 cm deb daha büyüktür.
T4	Tümörün çapının önemi yok çünkü tümörün göğüs duvarı ya da lenf bezlerine yayıldığını gösterir.
NX	Lenf bezlerine yayıldığı belirlenmemiştir.
N0	Tümör Lenf bezine yayılmıştır.
N1	Tümörün yeri sabit olmamakla birlikte lenflere yayılım gözlenmiştir.
N2	Tümörün bulunduğu göğüs ile aynı tarafta bulunan lenf bezlerine yayılım gözlenmiştir.
N3	Tümörün bulunduğu göğüs ile aynı tarafta bulunan mamary ya da supracavicular lenf bezlerine yayılmıştır.
MX	Tümörün metastazı belirlenmemiştir.
M0	Tümör metastaz yaparak diğer uzak doku ve organlara yayılmıştır.
M1	Tümör metastaz yaparak diğer uzak doku ve organlara yayılmıştır.

Meme kanserinin tedavisinde, hastalığının evresine göre aşağıda belirtilen yöntemlerden biri ve/veya birkaçı uygulanabilir (Şekil 2. 3). Bölgesel ya da primer meme kanseri hastalarında birleştirilmiş tedavi modeli (kemoterapi sonrası cerrahi, radyoterapi ya da her ikiside) uygulanır (Hortobagyi, 1994). Cerrahi tedavi, en çok tercih edilen ve yaygın olarak kullanılan yöntemdir. Cerrahi tedavide amaç memedeki tümörün tamamını ortadan kaldırmaktır. Ayrıca beden görüntüsündeki deformasyonları en aza indirmek açısından meme koruyucu cerrahi (BCS) veya mastektomi de kullanılabilir. Meme koruyucu cerrahi (BCS), kısmi

mastektomi, kadranektomi ve lumpektomi olarak da bilinir. Tüm memenin alınması ise basit veya total mastektomi olarak ifade edilir(American Cancer Society, 2013).



Şekil 2. 3. Meme kanserinde tedavi yöntemleri

Radyoterapi tedavisi kullanılarak meme kanserinin nüks riski yaklaşık olarak % 50 mortalite riskini ise % 20 oranında indirgelediği bilinmektedir (Darby ve diğ., 2005). Radyoterapi tedavisi, çoğu zaman cerrahi tedavi sonrasında çevresel dokularda kalmış olan ya da cerrahi öncesi 5 cm' den büyük tümör hücrelerini yok etmek ve/veya küçültmek amacıyla kullanılır (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, 2000). Kanserin ortaya çıkma olasılığı meme koruyucu cerrahide daha yüksek olmasına rağmen operasyon sonrası radyoterapi yapıldığı takdirde başarılı sonuçlar alınabilmektedir (Fisher 2002; Litiere 2012; Veronesi 2002).

Kemoterapi tedavisi metastaz yapmış tümörün boyutunu küçültmek amacıyla uygulanır. Kemoterapiden adjuvan ile tedavi olarak da bahsedilebilir. Kanserin evresi ve çeşidine bağlı olarak tek bir ilaç ve/veya ilaç kombinasyonlarının kullanımına bağlı olarak daha verimli sonuçlar elde edilir. Meme kanserinde en çok kullanılan ilaç kombinasyonları; siklofosfamid, metotreksat, 5-florourasil (CMF kombinasyonları), doksorubisin (Adriamisin), epirubisin, paklitaksel (Taksol) ve dosetaksel'dir (Gonzalez 2007).

Hormon tedavisi, cerrahi sonrası ya da ilerlemiş durumdaki meme kanserleri için kullanılır. En sık kullanılan ilaçlar Tamoxifen, toremifene ve fulvestrant

(Faslodex®)' tır. Hormon tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar menopoza girmeyen kadınlarda östrojen seviyesini arttırabilmektedir (American Cancer Society, 2015).

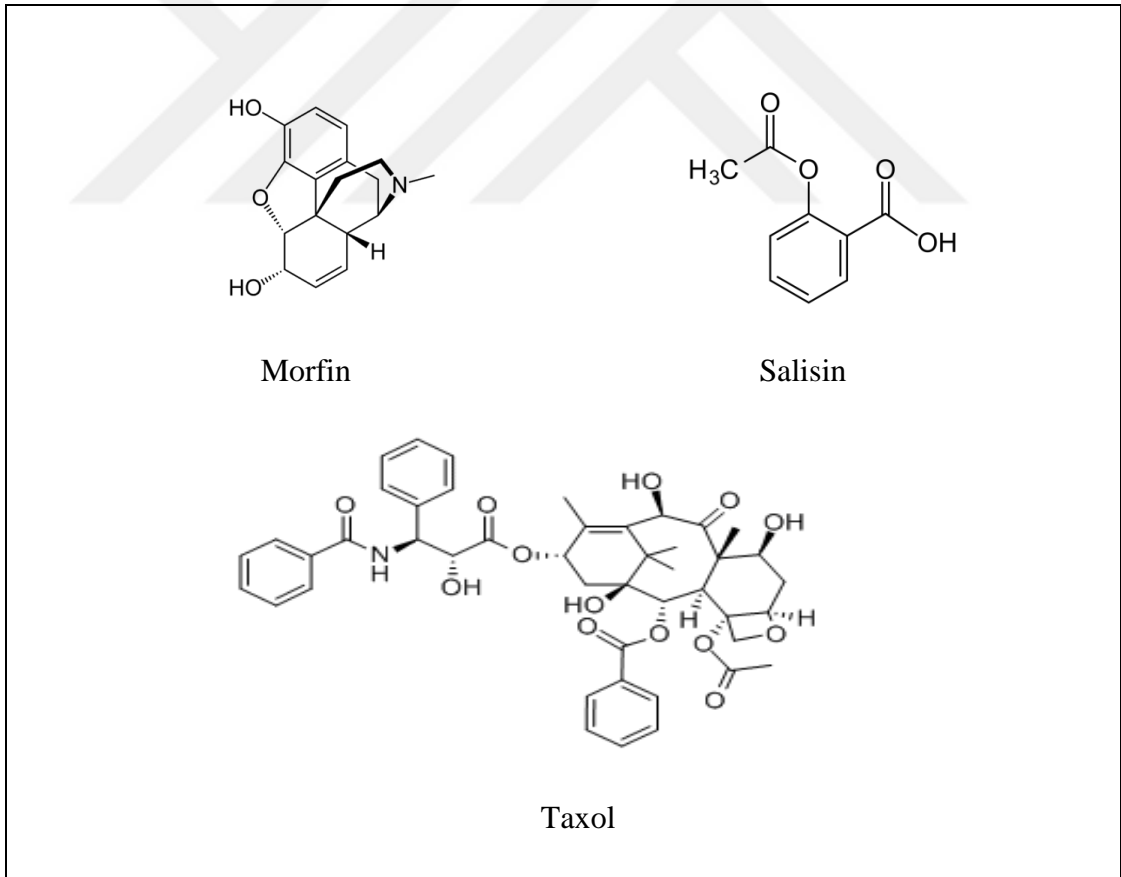
Meme kanseri hastalarının yaklaşık % 15-20'si HER-2' yi (büyüme uyarıcı proteini) fazla üretirler (Carey ve diğ., 2006). HER-2 proteinini doğrudan hedefleyen, Trastuzumab (Herceptin) monoklonal bir antikordur. Hedeflenmiş tedavi de kullanılan Trastuzumab metastatik HER-2 pozitif hastalarının standardıdır (Wolff ve diğ., 2007). Romond ve arkadaşlarının 2005 yılında yapmış oldukları bir çalışmada sadece standart kemoterapi uygulamasının meme kanserini nüks ve mortalite oranını % 33 azalttığını gösterirken, standart kemoterapiye Trastuzumab eklenmesi sonucunda bu oranların % 52' lere çıktığını belirtmişlerdir.

Meme kanserinde kullanılan bazı tedavi yöntemlerinin uzun sürmesi ve/ veya yan etkilerinin bulunması hastaları farklı arayışlara yönlendirmiştir. Tamamlayıcı ve alternatif tedavi yöntemlerinin kullanımı gelenekseldir (Reed 2000, Yavuz 2001). Tamamlayıcı tedavi bilimsel tıp ile birlikte kullanılan (akupunktur, meditasyon, aromaterapi, teröpatik masaj ve diğer relaksasyon teknikleri vb.) yöntemler; alternatif tedavi ise bilimsel tedavi yönteminin yerine kullanılan (diyet ve beslenme çeşitleri, farmakolojik ve biyolojik tedaviler vb.) yöntemlerdir (Algier 2005, Gözüm 2003). Kanser insidansının artışı, ortalama yaşam süresinin uzaması, hastaların sağ kalım oranlarının artmasına bağlı olarak; kanser hastalarının TAT kullanımını ve TAT hakkındaki bilgi arayışı devam etmektedir (Burkhardt 2001).

2.3. Fitoterapi

Yunanca phytos (=bitki) ve therapy (=tedavi) kelimelerinin birleşiminden oluşan fitoterapi terimi ilk kez 1870-1953 yılları arasında Fransız hekim Henri Leclerc tarafından keşfedilmiştir (Wpcare 2018). Fitoterapi; bitkilerin çeşitli kısımlarından (kök, tohum, polen, kabuk, meyve) hazırlanan ekstraktların tedavi de kullanılmasıdır (Gratzke 2015). Bitkisel tedavinin geçmişi antik çağlara dayanmaktadır (Bedi 2002). Örneğin Hakkâri' nin güneyinde Şanidar Mağarasındaki neanderthal mezarlarında bitki fosil örneklerinin bulunması fitoterapinin insanlık tarihi kadar eski olmasının kanıtıdır (Alkofahi 1990).

Bitkisel ilaçlar içerdikleri bileşenlere tedavi edici özelliği olan veya insanların sağlığına yararı olan maddeler veya ürünlerdir (Van Overwalle 2007). Bu bitkisel ilaçlar tek bir bitki ekstraktından elde edilebileceği gibi farklı bitki ekstraktlarının kombinasyonu sonucunda da kullanılabilir (McVary 2014). Fitoterapi de bitkilerin içerdikleri etken bileşenler genellikle primer ve sekonder metabolitler (protein ve nükleik asitler bu sınıflamanın dışındadır) olarak ikiye ayrılır. Primer metabolitler (Karbonhidratlar, yağlar, proteinler vb) hücre metabolizmasında önemlidir (Cowan1999, Theis2003). Sekonder metabolitler (alkoloid, terpen, fenolik bileşikler gibi) primer metabolitlerden elde edilerek çeşitli deneysel çalışmalarda kullanılır (Anonim 2009a, Anonim 2009b). Doğal bitki ürünleri olan yağlar, taninler ve saponinler ilaç endüstride doğrudan ya da dolaylı olarak kullanılmaktadır (Balandrin1985, Han 2001). İlaç endüstrisinde kullanılan en önemli bitki bileşikleri (salisin, taxol ve morfin) Şekil 2.4' te gösterilmiştir (Anonim 2003).



Şekil 2. 4. İlaç endüstrisinde kullanılan bazı sekonder metabolitlerin kimyasal yapısı

Sekonder metabolitlerin, hücre metabolizmasındaki fonksiyonları tam olarak bilinmemekle birlikte, genelde tozlaşmada, çevresel koşullara uyum, predatörlere karşı kimyasal savunmada etkili olduğu belirtilir (Vanisree 2004). Bitki yapısında az miktarda bulunmalarından dolayı ekstraksiyon ile saflaştırılmaları güçtür (Özgen 2005). Ülkemizde bitkisel ürünlerin ticari açıdan pazar payı oldukça fazladır (Ersöz 2012). Geleneksel Bitkisel Tıbbi Ürünler Yönetmeliği'ne göre, fitoterapi de kullanılan bazı kavramlar tanımlamaları ile birlikte Tablo 2. 5' te belirtilmiştir (İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü. Geleneksel bitkisel tıbbi ürünler yönetmeliği 2010).

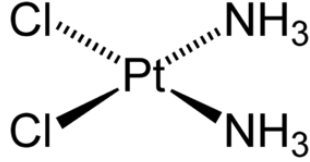
Tablo 2. 5. Fitoterapide kullanılan bazı kavram ve tanımlar

Kavramlar	Tanımları
DROG	Doğal kaynaklı ilaç hammaddesi
BİTKİSEL DROG	İşlem görmemiş, parçalara ayrılarak kurutulmuş bitkiler veya bitki parçaları
BİTKİSEL PREPARAT	Bitkisel drogların ekstraksiyonu sonunda elde edilen ürün
BİTKİSEL TIBBİ ÜRÜN	Drog, bitkisel preparat ve / veya kombinlerinden elde edilen tıbbi ürün
ETKEN MADDE	Bitkisel tıbbi ürünlerin farmakolojik aktivitesi
GELENEKSEL BİTKİSEL TIBBİ ÜRÜN	Bileşiminde yer alan tıbbi bitkilerin reçetesiz olarak kullanılması tasarlanmış olan, geleneksel tıbbi ürünlere uygun özel uygulamaları olan müstahzarlardır.

2.4. Sisplatin

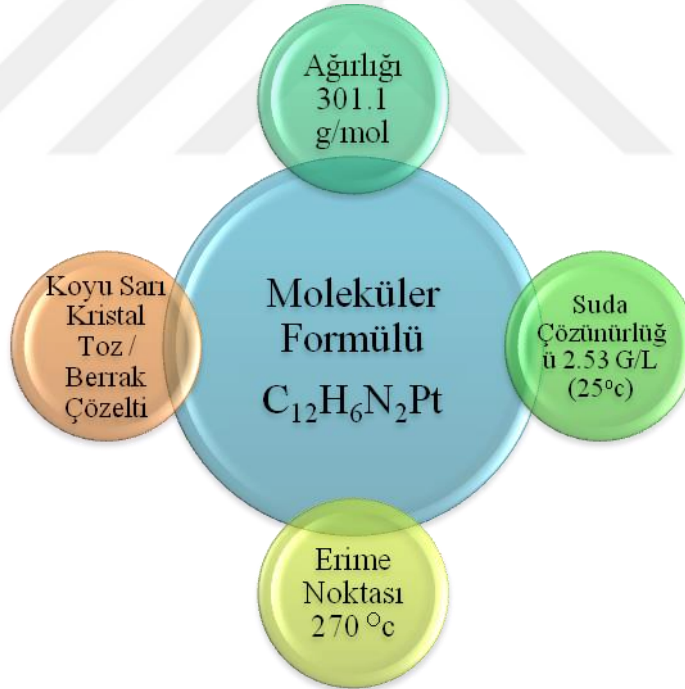
Sisplatin (cis-diamminedichloroplatinum-II) yapısında platin (Pt) bulunduran (Şekil 2. 5) kemoterapötik ajandır (Florea 2011, Kelland 2007, Boulikas 2003, Dasari 2014). Biyofizik uzmanı Barnett Rosenberg (1965), *E.coli* ile yapmış olduğu çalışmada kullandığı platin elektrotlarının antineoplastik ve antibakteriyel etki

yaptığını fark etmesi üzerine sispaltini keşfetmiştir (Rosenberg 1965). Daha sonraki çalışmalarda ise sispaltinin antitümör özelliği kanıtlanmıştır (Frezza 2010). Sispaltinin tedavide kullanılması FDA tarafından 1978 yılında onaylanmıştır (Kelland 2007).



Şekil 2. 5. Sispaltinin moleküler yapısı

Sispaltin sıklıkla solid tümörlerin (baş, boyun, akciğer, testis, over ve meme kanseri gibi) tedavisinde kullanılmaktadır (McKeage 1995). Tümör hücrelerinde DNA hasarına neden olarak apoptozu uyarır. Sispaltinin fizikokimyasal özellikleri Şekil 2. 6' da gösterilmiştir (Florea 2011, Boulikas 2003, Dasari 2014).



Şekil 2. 6. Sispaltinin fizikokimyasal özellikleri

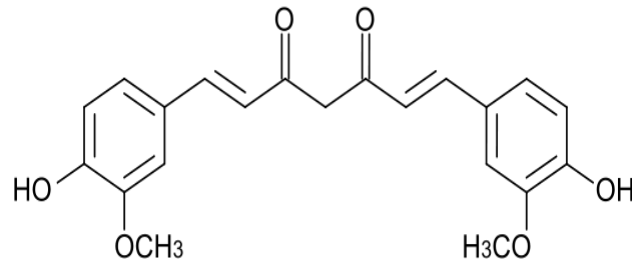
Sispaltinin, konsantrasyona bağlı olarak bazı yan etkileri (nefrotoksisite, hepatotoksisite, nörotoksisite, ototoksisite) toksisiteye sebep olabilmektedir. Bu toksisiteye sebep olan metabolit cis-diamineaquachloroplatinum II'dir. Bu metabolit

oksijen radikallerini arttırarak DNA replikasyonu ve tamirini önleyebilmektedir. (Kopke 1997, Bánfi 2004, Dehne 2001). Ayrıca ilacın dozu, hastanın yaşı, diğer toksik ajanlar ile birlikte kullanımı, beslenme, düşük serum albumini ve anemi yan etkilerin ortaya çıkmasını kolaylaştıran faktörlerdir (Bokemeyer 1998, Kopelman 1988, Huang 2002). Sisplatinin neden olduğu toksik etkilerin mekanizmaları çok karmaşıktır (Dugbartey 2016).

Sisplatin yan etkilerine rağmen, her yaşta sık olarak kullanılabilen antineoplastik ajanlardan biridir. Güçlü kemoterapötik bir ajan olması günümüzde halen kullanımını devam ettirmektedir. Taş ve Şimşek (2017) yapmış oldukları çalışmada sisplatinin yan etkilerini önleme ve tedavi etmede daha fazla deneyler planlanması gerektiğini belirtmektedirler (Taş ve Şimşek 2017).

2.5. Kurkumin

Ana vatanı Güney Asya olan kurkumin; Zingiberaceae ailesine ait *Curcuma longa* bitkisinin rizomlarından elde edilmektedir. Halk arasında “zerdeçal ve hint safranı” olarak bilinir. Turuncu renkte polifenolik bir yapıdadır Aggarwal 2007, Goel 2008). Moleküler yapısı Şekil 2. 7’de gösterilmiştir (Duvoix 2005). Kurkumin suda ve eterde çözünmeyen fakat diğer organik çözücülerde (aseton, dimetilsülfoksit, etanol) çözünen lipofilik bir bileşiktir (Aggarwal 2003, Goel 2008, Sharma 2005). Lipofilik özelliğinden dolayı hücre zarı, endoplazmik retikulum ve çekirdek zarı gibi yapılarda yoğunlaşır.



Şekil 2. 7. Kurkuminin moleküler yapısı

Rizomların aktif maddesi ve turuncu rengin ana kaynağı olan CUR (diferuloylmethane), gıda boyası olarak da kullanılır. FDA tarafından da onaylanan kurkumin çoğu ülkede gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır (Gupta 2013).

İçeriğindeki etken fenolik maddeler büyümesi durdurulmuş hücrelerin onarımını sağlayarak apoptozisi engellemektedirler (Sharma 1976). Yapılan invitro ve invivo çalışmalarda kurkuminin birçok hastalık üzerine antioksidan, antiinflamatuvar, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antiseptik, analjezik ve antikanser rolü olduğu bilinmektedir. (Shishodia 2005, Pari 2008).

Kurkuminin mekanizmasına bakıldığında bazı yolları (kaspaz aktivasyon, tümör süpresör, mitokondriyal ve protein kinaz) etkileyerek tümör hücrelerini öldürürken normal hücrelere zarar vermeden antiproliferatif ve antiapoptotik yeteneğe sahip olduğu gösterilmektedir (Ravindran 200, Duvoix 2005). Kurkumin ile inkübasyona bırakılan kanserli hücre hatlarının DNA içeriklerinin G1 /S fazında bulunduğu belirtilmiştir. (Singh 1996). Yani hücre döngüsünün ilerlemesini bloke eder. Bazı hücreliletim yollarının (NF-kB, Notch-1, c-Jun N-terminal kinaz) düzenlenmesine yardımcı olur (Chen2014).

2.6. Propolis

Propolis yunanca pro, "giriş" ve polis, "şehir" kelimelerinin birleşiminden oluşur ve işçi bal arılarının kovani savunması anlamında kullanılır (Burdock 1998). Tıbbi anlamda propolis antik çağlarda beri çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır (Castolda 2002). Günümüzde de sentetik ilaçların etkilerinin artması ile birlikte doğal ilaçların kullanımına geri dönmeye başlanmıştır (Kutluca 2006).

Propolis, işçi bal arılarının çeneleri ile toplayıp arka ayakları ile koloniye getirdiği reçinemsibir maddedir. Bir arı kolonisi yaklaşık olarak bir yılda 150-200 g propolis toplayabilmektedir (Crane 1990, Kuropatnicki 2013). Propolis ortam sıcaklıklarına göre katı, yumuşak ve çok yapışkandır. Su, eter, aseton gibi organik çözücülerde kısmen erirken % 95' lik etil alkolde tamamı çözünür. (Tutkun 2000).

Propolisi oluşturan bileşenlerin sabit bir oranı yoktur yaklaşık değerler Tablo 2. 6' da gösterilmektedir (Albayrak 2008, Demir 2010). Genel olarak flavonoidler, fenolik asit ve esterleri, terpenoidler, steroidler, aminoasitler ve inorganik bileşiklerden oluşan kimyasal bir yapısı vardır (Moreno 2000). Kimyasal bileşenlerin sabit bir değerinin olmaması iklim, mevsim, coğrafik bölge, toplandığı zamana göre

çeşitli farklılıklardan kaynaklandığı belirtilmektedir (Sforcin2000, Hegazi 2000). Propoliste farmakolojik etkinliği yüksek olan bileşenler flavonlar, flavonoller ve flavononlar ile çeşitli fenolik maddeler ve aroma maddeleridir (Grange ve Davey 1990).

Tablo 2. 6. Propolisin kimyasal bileşenleri

Bileşen Sınıfı	Bileşen Grubu	Miktar (%)
Reçine	Flavonoidler Fenolik asitler ve esterleri Terpenler	% 45-55
Mum ve yağ asitleri	Doymamış yağ asitleri Arı ve Bitkilerden elde edilen mum	% 25-35
Esensiyal yağlar	Uçucu bileşenler	% 10
Polen	Eser element ve Serbest amino asitler	%5
Diğer organik ve mineral maddeler	Ketonlar, Laktonlar, Kinonlar, Steroidler Benzoik asit ve esterleri Şekerler	%5

Arılar propolisi kovanda meydana gelen deliklerin kapatılması, peteklerin onarılması, hasat zamanı çerçevelerin bağlanması, ana arı yumurtlamadan önce peteğin temizlenmesi amacıyla kullanılmaktadır (Basim 2006). Aynı zamanda arılar propolisi kendileri için tehdit oluşturacak diğer büyük canlıları mumyalayarak enfeksiyon oluşmasını engellemiş olurlar. (Bankova 2014).

Propolis üzerine yapılan invitro ve invivo denemelerde, tümör hücrelerinde büyümeyi engelleyici etkisi rapor edilmiştir (Sforcin 2007). Bogdanov (2012) ve ark. fareler üzerine yapmış oldukları çalışmada propolisin, kemoterapik ajanların toksik etkisini elemine ettiğini ve aynı sonucun insanlar üzerinde de benzer bir etki oluşturacağını belirtmişlerdir. Bu yapılan çalışma propolis ve anti kanser ajanlar arasındaki sinerjiyi gösterir niteliktedir. Yapılan deneysel çalışmalar sonucunda

propolisin birçok biyolojik aktiviteye (antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiinflatör, antiülser, antitümör, immünostimülatör) sahip olduğu bilinmektedir. Bu sebeple halk tıbbında; apiterapi, biokozmetik ve ilaç sanayinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Kujumgiev 1999, Ota 2001)

2.7. Apoptoz

Her hücre, yaşam döngüsü boyunca doğar, çoğalır (proliferasyon), farklılaşır (diferansiasyon) ve ölür (apoptozis) (Erdoğan 2003, Hıkım 1995). İlk olarak Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972'de tanımlanmıştır (Kerr 1972). Apoptoz, sonbaharda yaprak dökümünü tanımlayan, Yunanca apo(=ayrı) ve ptozis(=düşen) kelimelerinin birleştirilmesiyle oluşturulmuş bir kelimedir (Bylinsky 1995, Hızel 1997, Israels 1999, Nagata 1999). Programlanmış hücre ölümü süreci olarak tanımlanan apoptozis enerji bağımlı biyokimyasal bir mekanizmadır(Elmore susan 2007). Apoptoz ve nekroz arasındaki ayrımı iyi bilmemiz gerekir çünkü bu iki olay bazen karıştırılabilmektedir (Şekil 2. 8).



Şekil 2. 8. Apoptoz ve Nekroz arasındaki farklar

(Barisic 2003)

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, homeostasinin bozulması sonucunda gelişen hastalıkların patogenezinde apoptozun önemi gösterilmektedir(Mcphie 2003). Örneğin karsinogenezinde çoğalmanın hızlandığı ve indirgenmiş apoptozisin önemi olduğu düşünülür (Kerr 1994). Canlı yapısında apoptozisi indükleyen (c-

myc, Bax, p21) ve baskılayan (ras onkogeni, p53, c-abl geni) çok sayıda gen bulunmaktadır. (Öktem 2001).

Günümüzde apoptozun biyokimyasal ve genetik komponentlerinin aydınlatılması kanser gibi birçok hastalık için yeni tedavi olanaklarını gündeme getirmektedir (Yazıcı 2016).

Apoptoz, ölüm sinyallerinin ölüm reseptörlerine bağlanmasıyla dışsal, hücre içi toksisitenin neden olduğu içsel yolak olmak üzere başlıca iki yoldan oluşmaktadır. Her iki yolak da birbiri ile bağlantılıdır (Şekil 2. 9). Bir yolda rol alan moleküller diğer yoldakini etkileyebilmektedir (Igney2002, Parrish 2013).

2.7.1. Dışsal Yolak

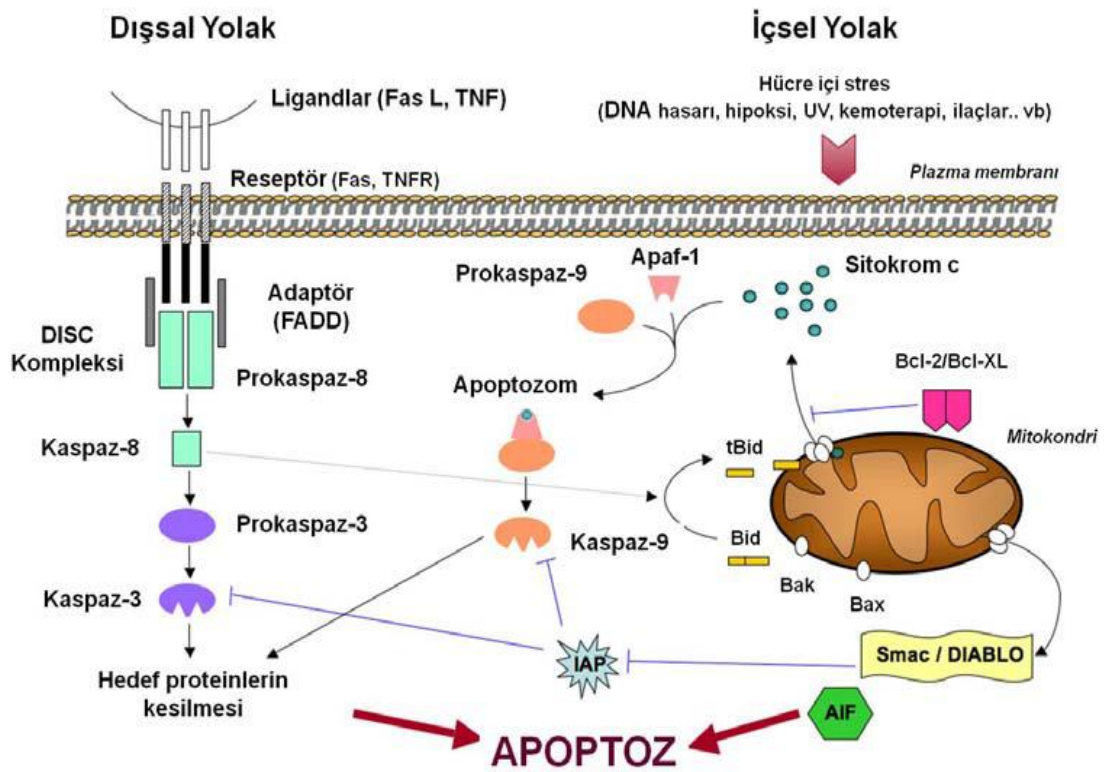
Hücre dışındaki bir sinyalin plazma membranına bağlı reseptörler aracılığıyla apoptotik aktiviteye dönüşmesine dışsal yolak denir. Ölüm reseptörleri (death receptor) yolağı olarak da bilinmektedir (Raff 1998). Tümör nekroz faktörü (TNF) tümör hücrelerinin ölümüne neden olduğu ortaya konulmuştur. TNF ailesi, reseptör proteinlerin hücre dışı bölgelerine bağlanarak etki göstermektedir. TNF ailesinde 19 farklı ligand bulunmakta ve bu ligandlar TNF reseptör (TNFr) ailesine ait 29 farklı reseptöre bağlanmaktadır (Aggarwal 2003, Locksley 2001).

Dışsal yolak da Fas ligandı (CD95/APO-1) Fas reseptörüne (FASr), TNF ligandı ise TNFr bağlanır. Ardından Fasr, Fas ilişkili ölüm domainine (FADD), TNFr ise FADD ve reseptör interaktif protein (RIP) birimleri ile adaptör TNFR-1 ilişkili ölüm domaini (TRADD) proteininin bağlanmasına yol açar (Hsu H 1995, Wajan 2002). FADD, prokaspaz 8 ile birleşerek öldürücü sinyal kompleksini (DISC) oluşturur. Bu kompleks, NF-kB (Nuclear factor kappa B), JNK (c-Jun N-terminal kinase) ve p53 aracılığı ile apoptozis dengesi ayarlanır. DISC, Prokaspaz 8' i aktive eder (Kischkel 1995). Dışsal Yolak da FADD ve kaspaz-8'e bağlanan c-FLIP olarak adlandırılan bir protein tarafından inhibe edilir (Scaffidi1999, Kataoka 1998).

2.7.2. İçsel Yolak

İçsel yolak hücre içi reseptörleri tarafından oluşturulan sinyallerin mitokondri dışı zarındaki değişim sonucu gerçekleşir. Bu sebeple içsel yolağı mitokondrial yolak adı da verilmektedir (Hengartner 2000, Jin 2005).

Mitokondriden sitoplâzmayla sitokrom c salınarak kaspaz kaskadı başlatılır (Puentes-Prior 2004). Sitokrom c molekülü, sitoplâzma proteini olan apopitotik proteaz aktive edici faktör-1 (Apaf-1)'e bağlanarak kaspaz aktivasyonu görevlendirme bölgelerinin (CARDs) görünmelerini sağlar (Bratton 2010). İnaktif prokaspaz-9, CARDs ile birleşerek apopitozom kompleksini oluşturur. Aktifleşen kaspaz-9, kaspaz aktivasyonunu başlatır. Aktive olmuş kaspaz-9 hücre ölümünü gerçekleştirebilecek olan kaspaz3 ve kaspaz7' yi aktifleştirir. Daha sonra hücre kalıntıları ve apopitotik hücreler fagositozla uzaklaştırır (Tait 2013).



Şekil 2. 9. Dışsal ve İçsel apopitotik yollar

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Bu tez çalışması Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Ar-Ge Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Çalışma süresince kullanılan cihazlar, markaları ve menşei Tablo 3. 1' de verildi. Kullanılan sarf ve diğer malzemelerin markaları ve

menşei Tablo 3. 2' de belirtildi. Bu çalışmada kullanılan propolis örneği Edirne ilinin Tuğlalık köyünden, kurkumin ise Tekirdağ ilindeki bir aktardan temin edilmiştir.

Tablo 3. 1. Çalışmada kullanılan cihazlar, markaları ve menşei

Kullanılan Cihazlar		
Malzeme	Marka	Ülke
Biyogüvenlik Kabini	Biobase	Almanya
İnvert Mikroskop	Olympus CKX53	Japonya
CO ₂ ' li İnkübatör	Heal Force/HF90 Smart cell	Çin
Santrifüj	Eppendorf centrifuge 5810R	Almanya
Derin Donduruculu Buzdolabı (+4 °c Ve -20 °c)	Arçelik	Türkiye
Derin Dondurucu (-80 °c)	Arçelik	Türkiye
Hassas Analitik Terazı	Denver Instrument	A. B. D
Otoklav	HMC	Japonya
Vorteks	Isolab	Almanya
Flow Sitometre	BD FACSCalibur	Singapur
Çeşitli Hacimlerde Otomatik Pipet Seti	Dragon-med	Almanya
Azot Tankı	Awtech scientific	Kanada
Su Banyosu	Nuve	Türkiye

Tablo 3. 2. Çalışmalarda kullanılan sarf ve diğer malzemeler, markaları ve menşei

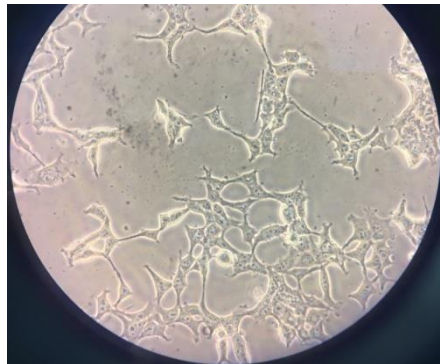
Kullanılan Sarf ve Diğer Malzemeler		
Malzeme	Marka	Ülke
Membran filtreleri (0.2 µm)	Minisart® NML Syringe Filter	Almanya
Standart 25 ve 75 cm ² hücre kültür flasks	VWR/SPC	Kanada
15 ve 50 mL hacimli steril falkon tüpler	Isolab	Türkiye
Steril 96 kuyucuklu hücre kültür plakları	VWR/SPC	Kanada
Thoma lamı ve lamel		
10 ve 25 mL hacimli steril serolojik pipetler	SPL	Güney Kore
3 mL hacimli steril pastör pipetleri	Isolab	Türkiye
Çeşitli hacimlerde (0. 1-1000 µL) steril pipet uçları	Isolab	Türkiye
0.5 ve 1. 5 mL hacimli kapaklı tüpler	Isolab	Türkiye
Steril 6 kuyucuklu hücre kültür plakları	VWR/SPC	Kanada
Hücre Kazıyıcı(290mm/200mm)	SPL	Güney Kore
DMEM, Dulbecco's Modified Eagle Medium	Gibco	ABD
%0.25 Trypsin EDTA	Gibco	ABD
Penisilin/Streptomisin	Gibco	ABD
FBS, Fetal Sığır Serum	Gibco	ABD

Etanol	Merck	ABD
DMSO, Dimetil Sülfoksit	Merck	ABD
Fenol Redsiz RPMI	Gibco	ABD
DPBS	Gibco	ABD
Kriyojenik Vial	Cryovial®	Fransa
MTT 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-yl)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromid	Vybrant® İnvitrogen	ABD
İnvitrogen Apoptozis Kiti	İnvitrogen	ABD
Steril Eldiven	Sterix	Türkiye
Cam Malzemeler, Deney Tüpleri, beher vs.	Isolab	Türkiye

3.2. Uygulanan Yöntemler

3.2.1. Hücre Hattı

MCF-7 hücreleri tümörojeniktir ve immün sistem baskılandığında tümör oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Çalışmamızda Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Emin Ümit BAĞRIAÇIK tarafından temin edilen insan meme kanseri MCF-7 (ATCC MCF-7) hücre hattı kullanıldı (şekil 3. 1).



Şekil 3. 1. MCF-7 İnsan meme kanseri hücrelerinin invert mikroskopu altındaki görüntüsü (40 X büyütme ile)

3.2.2. Hücre Hattı Besiyeri

MCF-7 hücreleri için Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) (Tablo 3. 3), içerisine 50 ml inaktive edilmiş Fetal Sığır Serumu (FBS), 5 ml Penisilin/Streptomisin antibiyotik karışımından, 5 ml Sodyum Pirüvat, 5 ml MEM-non Essential, 5 ml L-Glutamin, 2.5 ml Ciflosin ve 500 µl β2-mercaptoethanol eklenerek hazırlandı. Kontaminasyon riskini minimuma indirmek için hazırlanan besiyeri 50 ml hacminde falkon tüplere bölünerek 4°C sıcaklıkta buzdolabında saklandı.

Tablo 3. 3. Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içeriği
(Dulbecco 1959)

İçeriği	Moleküler Ağırlığı	Konsantrasyo n(mg/L)	mM
Amino Asitler			
Glisin	75.0	30.0	0.4
L-arginin hidroklorid	211.0	84.0	0.398104
L-sistin 2HCl	313.0	63.0	0.201277
L-Glutamin	146.0	580.0	3.972602
L-Histidin hidrolorid- H ₂ O	210.0	42.0	0.2
L-Izolösin	131.0	105.0	0.801526
L-Lösin	131.0	105.0	0.801526
L-Lisin hidroklorid	183.0	146.0	0.797814
L-Metionin	149.0	30.0	0.201342
L-Fenilalanin	165.0	66.0	0.4
L-Serin	105.0	42.0	0.4

L-Treonin	119.0	95.0	0.798319
L-Triptofan	204.0	16.0	0.07843
L-Tirosin	181.0	72.0	0.39779
L-Valin	117.0	94.0	0.80341
Vitaminler			
Kolin klorid	140.0	4.0	0.028571
D-Kalsiyum pantotenat	477.0	4.0	0.008385
Folik Asit	441.0	4.0	0.009070
Niasinamid	122.0	4.0	0.032786
Piridoksin hidroklorid	206.0	4.0	0.019417
Riboflavin	376.0	0.4	0.001063
Tiamin Hidroklorid	337.0	4.0	0.011869
i-Inositol	180.0	7.2	0.04
İnorganik Tuzlar			
Kalsiyum Klorid	147.0	264.0	1.795918
Ferrik Nitrat	404.0	0.1	2.47524
Magnezyum Sülfat	246.0	200.0	0.81300
Potasyum Klorid	75.0	400.0	5.33333
Sodyum Bikarbonat	84.0	3700.0	44.0476
Sodyum Klorid	58.0	6400.0	110.344
Sodyum Fosfat Monobazik	154.0	141.0	0.91558

Diğer Bileşikler			
D-Glukoz (Dekstroz)	180.0	1000.0	5.55555
Fenol Kırmızısı	376.4	15.0	0.03985
Sodyum Pirüvat	110.0	110.0	1.0

3.2.3. Hücrelerin Kültüre Alınması

-196°C' de azot tankından çıkarılan kriyojenik vial musluk altından geçirildikten sonra 37°C' deki su banyosuna alınarak çözünmesi beklendi. Su banyosunda fazla bekletmeden (hücre ozmoza uğramadan) çözündüğü gibi kültür işlemine alındı. Çözünen hücre süspansiyonu 4°C'de 1200 rpm (rotor per minute) ' de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısım pipet yardımı ile alınıp atıldı. Üzerine 1 ml besiyeri eklenerek resüspanse edildi. Resüspanse edilen hücreler Trypan mavisi ile boyanarak canlı-ölü hücre konsantrasyonuna bakılıp 25/75 cm²' lik flasklara aktarıldı. Flasklara besiyeri eklenerek homojen karışım sağlandı. Tüm işlemler bittikten sonra 37°C' de %5' lik CO₂ içeren steril inkübatörde kültüre alındı.

3.2.4. Hücrelerin Pasajlanması

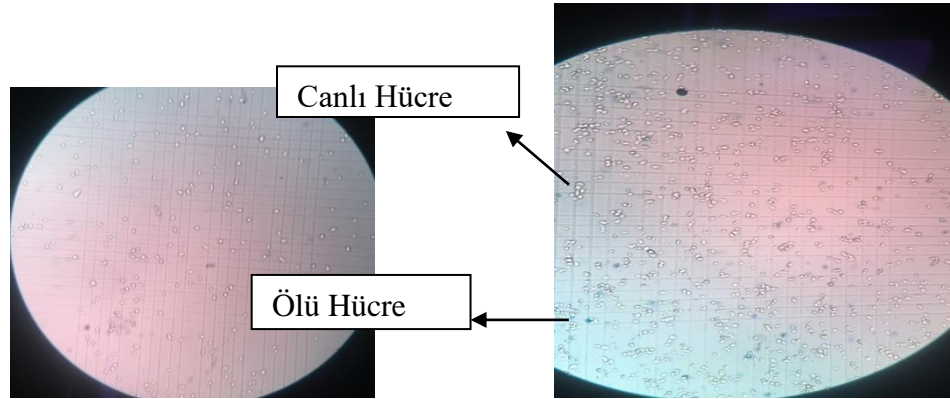
Yeterli konsantrasyona ulaşıp flask tabanına tutunmuş olan hücrelere değmeden dikkatli bir şekilde pipetle süpernatant atıldı. 5 ml steril DPBS ile flaskın tabanı fazla bekletmeden yıkandı ve pipetle tamamı çekilerek döküldü. 25 cm²' lik flaska 5 ml, 75 cm²' lik flaska 10 ml Trypsin/EDTA çözeltisi eklenerek hücrelerin tabandan kalkması için inkübatörde 1-2 dk bekletildi. Hücrelerin tabandan kalkması sağlandıktan sonra hücre-trypsin/EDTA karışımı pipetle falkona alınarak 4°C' de 1200 rpm' de 3dk santrifüj edildi. Santifüjden sonra falkondaki süpernatant kısım atıldı. Ardından trypsin/EDTA kalma ihtimaline karşı bir kez daha besiyeri ile yıkama işlemi tekrarlandı ve santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Pellet kısmı besiyeri ile resüspanse edilerek flasklara ekildi ve hücrelerin konsantrasyonu invert mikroskopunda kontrol edildi.

3.2.5. Hücrelerin Dondurulması

Hücrelerin dondurulmasında Trypsin/EDTA yöntemi kullanılarak flask tabanına yapışan hücreler kaldırıldı. Falkona alınan hücrelerin 4°C' de 1200 rpm' de 3 dk olmak üzere 2 kez yıkama işlemi yapıldı. Pellet 1 ml besiyeri ile resüspense edildi. Trypan mavisi kullanılarak hücrelerin canlı-ölü sayısı hesaplandı. Her Kriyojenik Viale 1×10^6 hücre düşecek şekilde 50 µl DMSO, 950 µl FBS eklendi. Kriyojenik Vialler hücre süspansiyonu donana kadar önce -20°C' de daha sonra 24 saat -80°C derin dondurucuda bekletildi ve -196°C' deki sıvı azot tankına alındı.

3.2.6. Trypan Mavisi Yöntemi ile Hücrelerin Boyanması

Dondurulmuş hücreleri açarken ya da Trypsin/EDTA yöntemine uygun şekilde flask tabanından kaldırılan hücrelerin dondurulma işleminden önce Trypan mavisi kullanılarak hücre sayımı gerçekleştirildi. Falkona alınan hücre süspansiyonlarının yıkama işleminden hemen sonra süpernatant atıldı. Pellet 1ml besiyeri ile pipetaj yapıldıktan sonra 10µl çekilip ependorfa aktarıldı. Üzerine Trypan mavisi çözeltisinden de 10µl eklenerek homojen şekilde karışması için pipetaj yapıldı ve 10µl alınarak Thoma Lamına aktarıldı. Thoma lamında hazırlanan örneğe ışık mikroskopunda bakılarak hücreler sayıldı (Şekil 3. 2).



Şekil 3. 2. Thoma lamında Trypan mavisi ile boyanan ve/veya boyanmayan MCF-7 hücreleri

Thoma Lamı'nda ölü hücreler Trypan Mavisi ile boyanarak mavi, canlı hücreler ise boyanmayarak şeffaf görünürler.

Hesaplama;

Total hücre sayısı (ml): Canlı hücre Sayısı x Seyreltme Faktörü x 10^4

3.2.7. Propolis Ekstraksiyonu ve Stok Hazırlanması

Edirne ilinin Tuğlalık köyünden kuru halde temin edilen propolis örneği havanda ezildikten sonra %70' lik ethanol ile 3 gün oda sıcaklığında etrafı ışık görmeyecek şekilde kapatılıp çalkalamalı etüvde çözülmeye bırakıldı. Hergün kontrolü yapılan propolis çözeltisinde ethanol azaldığında üzerine ilave yapıldı. Üç günün sonunda süzgeç ile süzöldükten sonra liyofilizatörde kurutularak toz haline getirildi. Kullanılana kadar +4°C' de saklandı. Toz haldeki propolisten stok çözeltimiz 320 µg/ml olacak şekilde 0.00160 gr/ml tartılıp 250 µl ethanol ve 4750 µl PBS ile çözdürüldü. Bu karışım 0.22 µM filtreden geçirildi.

3.2.8. Kurkumin Stok Çözeltisinin Hazırlanması

Tekirdağ ilindeki bir aktardan satın alınan Hindistan kökenli toz haldeki kurkumin örneği 200µl 0.5 M NaOH + 800 µl PBS ilave edilerek vortekslendi ve çözünmesi sağlandı. Elde edilen çözelti filtreden (0.22 µM) geçirilerek steril edildi. Her çalışma öncesi kurkumin ekstraktı taze olarak hazırlandı.

3.2.9. Sisplatin Stok Çözeltisinin Hazırlanması

Koçak Farma' dan temin edilen sisplatin (50 mg/100 ml) konsantre solüsyonundan 400 µl alınarak besiyeri ile 3600 µl' ye tamamlandı. Böylece stok konsantrasyon 200 µg/ml olacak şekilde hazırlandı.

3.2.10. Hücre Canlılık Testi

Hücre canlılık testi için makrofaj aracılı sitotoksitenin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi seçildi.

3.2.4 kısmında anlatıldığı şekilde flask tabanından kaldırılan hücreler süspanse hale getirildikten sonra Thoma Lamı' nda Trypan mavisi kullanılarak sayımı yapıldı. Çalışmada her kuyucuğa 3×10^4 hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlanarak 96 kuyucuklu hücre kültür plaklarına bu süspansiyondan 100µl pipetlendi. Propolis,

kurkumin, sisplatin ve negatif kontrol için 4 sıra şeklinde çalışıldı. 37°C'de %5' lik CO₂' li inkübatörde 2 gün inkübasyona bırakıldı. 2 gün boyunca invert mikroskopta hücreler izlenerek hücrelerin proliferasyon konsantrasyonları kontrol edildi. 2 günlük inkübasyonun sonunda kuyucukların dibine değmeden plakayı hafifçe kendimize doğru eğerek pipet ile fazla besiyeri çekilip atıldı. Üzerine 100 µl taze DMEM eklendi. Steril yeni bir 96 kuyucuklu hücre kültür plağının ilk kuyucuğu hariç 6 kuyucuğuna 100 µl besiyeri eklendi. İlk kuyucuğa ise çalışmamızda kullanacağımız ekstraktlar ve/veya kimyasaldan 200 µl eklenerek seri dilüsyonlar yapıldı. Seri dilüsyonu tamamlanan örnekler diğer plağa aktarıldı. Negatif kontrol sırasındaki tüm kuyucuklara 100 µl besiyeri eklendi. Plaklar 2 gün 37°C inkübasyona bırakıldı. Propolis için konsantrasyon aralığı 160/80/40/20/10/5/2,5 µg/ml; kurkumin aralığı 5/2,5/1,25/0,63/0,31/0,16/0,08 µg/ml; sisplatin aralığı ise 100/50/25/12,5/6,25/3,12/1,56 µg/ml' dir. İnkübasyondan sonra besiyeri dibe değmeden çekilip atıldı. Üzerine 100 µl fenol redsiz RPMI eklendi. Ardından daha önceden hazırladığımız MTT A bileşiğinden (1 ml steril PBS içerisinde) 10 µl eklenerek pipetaj yapıp 4 saat 37°C' de %5' lik CO₂' li etüvde inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlanan hücreler etüvden alındı. Her çalışma öncesi taze olarak hazırlanan MTT B bileşiğinden (2ml HCl içerisinde) 100 µl her kuyucuğa eklenerek pipetaj yapıldı. Plaklar 37°C' de %5' lik CO₂' li etüvde 4-18 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon işlemi tamamlandıktan sonra 570 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbanslar ölçüldü. Ölçülen absorbans değerinin, kontrol değerine oranı 100 ile çarpılarak % hücre canlılığı elde edildi.

$$\% \text{ Hücre canlılığı} = (A_{\text{ö}}/A_{\text{k}}) \times 100$$

A_ö: Örneğin absorbansı; A_k: Kontrol grubunun absorbansı

Hücrelerin %50'sinin öldüğü inhibitör konsantrasyonuna (LD₅₀/IC₅₀) en yakın konsantrasyon hesaplanarak sonraki aşamalarda bu konsantrasyonlar kullanıldı.

3.2.11. Hücre Apoptoz Testi

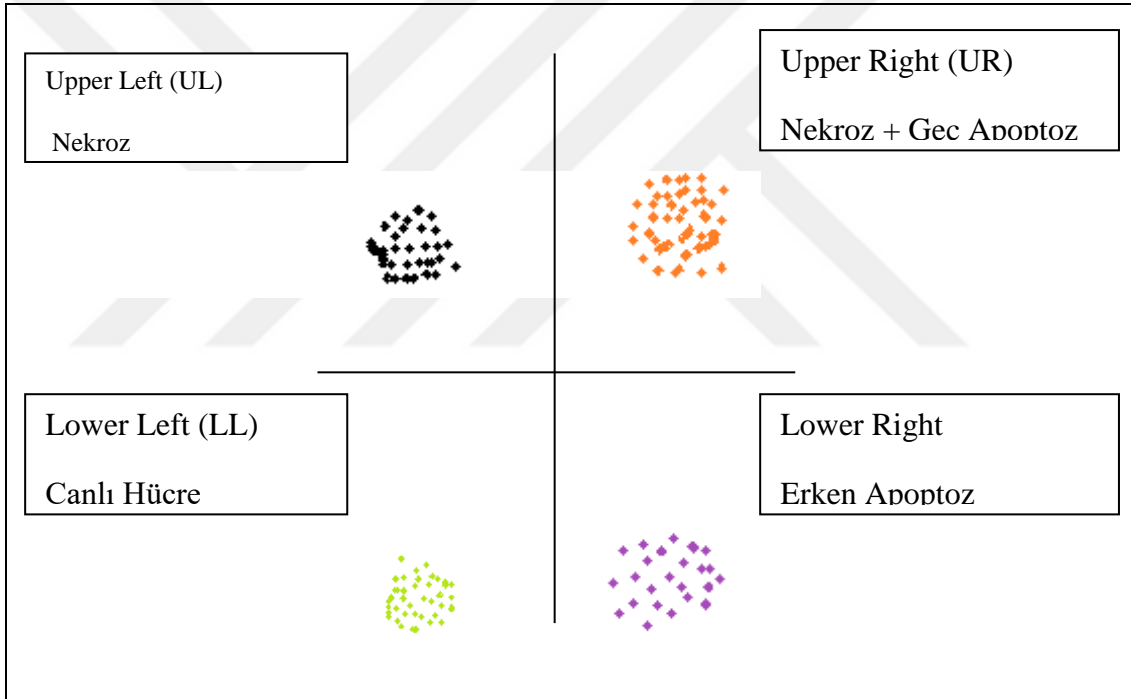
Hücre apoptoz testinde Dead Cell Apoptosis Kit with Annexin V Alexa Fluor™ 488 & Propidium Iodide (PI) kiti kullanıldı. Kit içerisindeki 5X annexin binding bufferdan 1 ml alınıp üzeri 4 ml distile su ile tamamlanarak 1X' lik annexin

binding buffer hazırlandı. Ardından diğer kimyasal bileşen olan Propidium Iodide (PI), 5 µl PI üzerine 45 µl 1X annexin binding buffer eklenip vorteksenerek hazırlandı. Bu hazırlıklar yapıldıktan sonra sırasıyla işlemler başlatıldı. 3. 2. 4' te anlatıldığı şekilde flask tabanından kaldırılan hücreler süspansiyon haline getirildikten sonra Thoma Lamı' nda Trypan mavisi kullanılarak sayımı yapıldı. Çalışmamızda kuyucuk başına 3×10^4 hücre olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlandı. Steril 6 kuyucuklu hücre kültür plaklarına 2 ml olacak şekilde hücre süspansiyonundan pipetlenerek plaklar 37°C'de %5' lik CO₂' li inkübatörde 2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyona bırakılan plaklar 2 gün boyunca invert mikroskopta hücreler izlenerek hücrelerin proliferasyon konsantrasyonları kontrol edildi. 2 gün inkübasyon sonunda hücre kültür plaklarının dibine değmeden pipet ile fazla besiyeri çekilip atıldı. Üzerine 1 ml taze DMEM eklendi. Steril yeni bir 6 kuyucuklu hücre kültür plağının ilk kuyucuğu hariç 5 kuyucuğuna 1 ml besiyeri eklendi. İlk kuyucuğa ise ekstrakt ve/veya kimyasaldan 2 ml eklenerek seri dilüsyonlar yapıldı. Seri dilüsyonu tamamlanan ekstrakt ve/veya kimyasaldan hücrelerin bulunduğu 6 kuyucuklu plaklara 1 ml pipetlendi. Kuyucuklarda toplam 2 ml besiyeri+ ekstrakt ve/veya kimyasal olan plaklar 37°C'de %5' lik CO₂' li inkübatörde 2 gün inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra besiyeri ile birlikte hücreler hücre kazıyıcı ile plak tabanından kaldırılıp Flow tüpüne alındı. İki kez 1 ml soğuk PBS ile 4°C' de 1500 rpm' de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant atılıp pellet üzerine 100 µl 1X annexin binding buffer eklenip resüspanse edildi. Fakat kontrol için kullanılan 4 kuyucuktan sadece hücre olan 1. tüp PBS ile diğer kontrol tüpleri ise 100 µl 1X annexin binding buffer eklenip resüspanse edildi.

100 µl 1X annexin binding buffer ile resüspanse edilen hücrelere 5 µl AnnexinV FITC ve 1 µl PI eklenilerek pipetaj yapıldıktan sonra 15 dk oda ısısında kenarları ışık almayacak şekilde kapatılıp beklendi. Fakat kontrol için ayırdığımız 2. tüp 1 µl PI, 3. tüp 5 µl AnnexinV FITC ve 4. tüp ise 1 µl PI + 5 µl AnnexinV FITC eklenilerek 15 dk inkübasyona bırakıldı (Tablo 3. 4). Onbeş dakika inkübasyon sonunda buz üstünde 400 µl 1X annexin binding buffer eklenerek pipetaj yapıldı. Hücreler 488 nm uyarı vererek 530/575 nm' de BD FACSCalibur cihazında okunarak şekil 3.4' teki gibi elde edilen görüntüler yorumlandı.

Tablo 3. 4. Hücre apoptoz testinde kontrol tüpleri

Kontrol Tüpleri
1. Tüp Sadece 100 µl hücre + Soğuk PBS
2. Tüp 100 µl hücre + 1 µl PI
3. Tüp 100 µl hücre + 5 µl AnnexinV FITC
4. Tüp 100 µl hücre + 1 µl PI + 5 µl AnnexinV FITC

**Şekil 3. 3. AnnexinV FITC/ PI Flow sitometri görüntüsü**

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizi Namık Kemal Üniversitesi lisanslı PASW Statistics 18SPSS(Statistics Program for Social and Sciencei IBM, ABD) programı ile yapıldı. MTT canlılık testi ve apoptoz testlerinden elde edilen sonuçlar ANOVA analizi ile karşılaştırıldı. Alt grup karşılaştırmaları ise Duncan testi ile gerçekleştirildi. Elde edilen "p" değeri $P < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. MTT Hücre Canlılık Testi Sonuçları

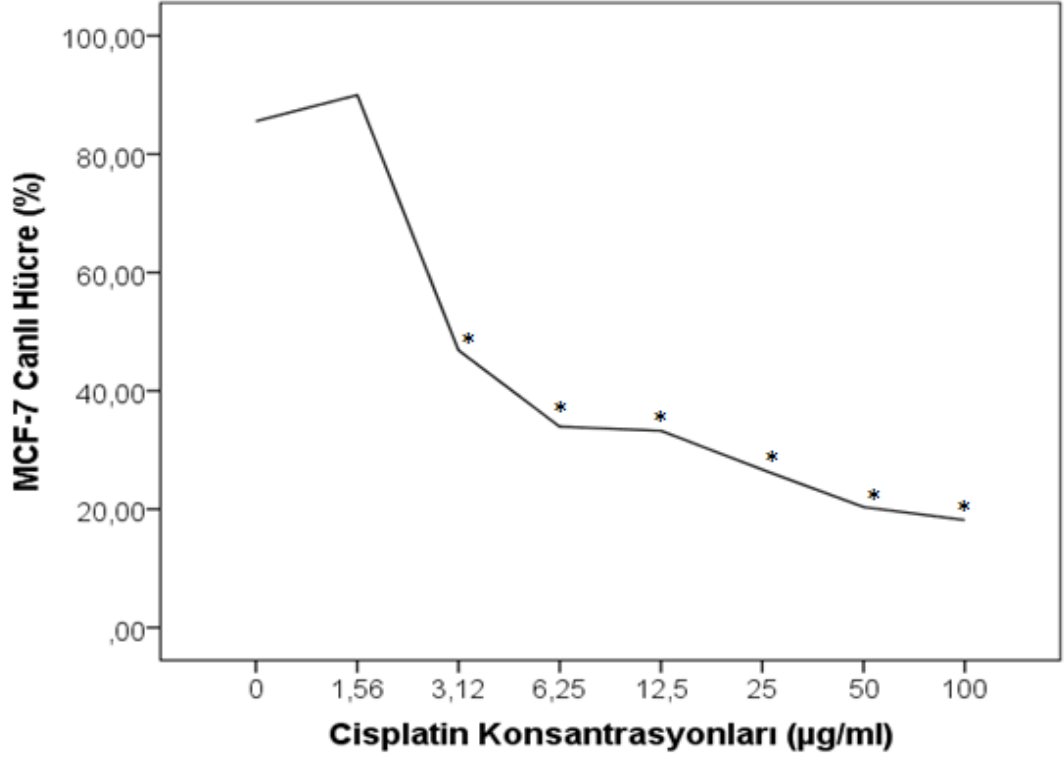
Çalışmamızda MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine propolis, kurkumin ve sisplatin uygulamaları hem tek tek hem de kombine olarak yapıldı. sisplatin, kurkumin ve propolis için hücrelerin % 50' sini öldüren letal doza (LD₅₀) en yakın konsantrasyonlar belirlendi.

4.1.1. Sisplatin MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

MCF-7 hücrelerinde 1.56-100 µg/ml doz aralıklarında uygulaması yapılan sisplatinin 48 saat sonra hücre canlılığına etkisi Şekil 4. 1' de gösterilmiştir. Her çalışma 5 kez tekrar edilmiştir.

Kemoterapötik bir ajan olan sisplatinin uygulanmasından 48 saat sonra MCF-7 hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptandı (p=0.00). Yapılan çalışmada 48 saat sonunda hücre canlılığında kontrole göre en belirgin azalmanın 100 µg/ml dozunda olduğu ve bu dozda hücre canlılığının 18,17±6,93 olduğu, en yüksek hücre canlılığının ise 1.56 µg/ml dozunda 89,99±8,46 olduğu belirlendi. Sisplatinin 25-50-100 µg/ml dozları arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı (p≥0.05). Sisplatinin 6.25-12.5-25 µg/ml dozları arasında da hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı (p≥0.05). 1.56 µg/ml dozundaki sisplatinin hücre canlılığı üzerine etkisi açısından kontrole kıyasla anlamlı bir fark bulunamadı. Ancak 3.12 µg/ml dozundaki hücre canlılık yüzdesi diğer tüm dozlardan istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p≤0.05). Farklı harf ile gösterilen gruplarda ortalamalar kontrole göre istatistiksel olarak farklı bulundu (ANOVA-Duncan test p<0.001, Tablo 4. 1)

MCF-7 hücre hattında 48 saatlik sisplatin uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ dozuna en yakın doz 3.12 µg/ml olarak belirlendi.



Şekil 4. 1. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Cisplatin konsantrasyonlarının MTT hücre canlılık testi yüzdeleri

(n=5) *Ortalamalar kontrole göre istatistiksel olarak farklıdır (ANOVA-Duncan test $p \leq 0.05$).

Tablo 4. 1. 1.56-100 µg/ml doz aralıklarında Sisplatin uygulamasının MCF-7 hücre canlılığına etkisi

(N=5, ortalama ± standart hata)

Doz (µg/ml)	N (Tekrar Sayısı)	48 Saat (\bar{X} +Std. D)	P Değeri
Kontrol	5	85,56±5,72 ^d	p<0.001
1.56	5	89,99±8,46 ^d	
3.12	5	46,85±8,72 ^c	
6.25	5	33,94±4,72 ^b	
12.5	5	33,25±5,00 ^b	
25	5	26,69±9,63 ^{ab}	
50	5	20,36±10,63 ^a	
100	5	18,17±6,93 ^a	

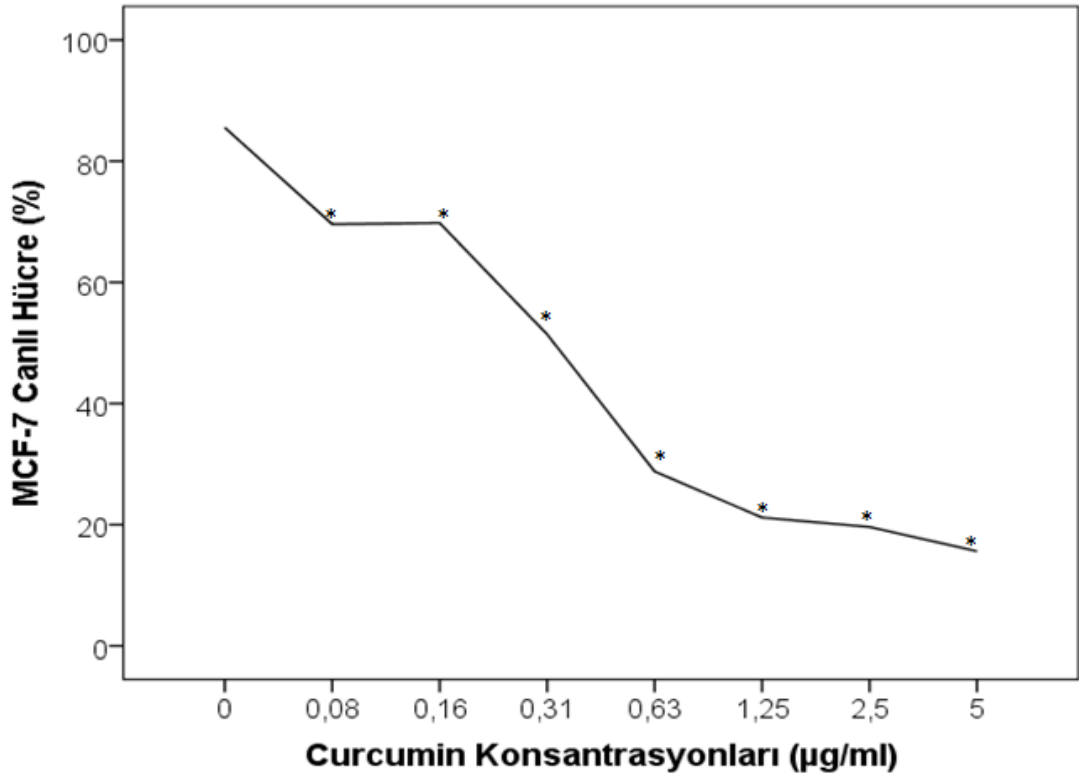
Propolis, kurkumin ve sisplatin' in tek olarak uygulanması sonucunda elde edilen hücre canlılığı verilerine göre maddelerin LD₅₀ dozuna en yakın dozlarının birlikte 48 saat uygulanmasına karar verildi.

4.1.2. Kurkuminin MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

MCF-7 hücrelerinde 0.08-5 µg/ml doz aralıklarında uygulanan kurkuminin 48 saat sonra hücre canlılığına etkisi Şekil 4. 2' de gösterilmiştir. Her çalışma 5 kez tekrar edilmiştir.

Kurkumin ekstraktının uygulanmasından 48 saat sonra MCF-7 hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu saptandı (p=0.00). Yapılan çalışmada 48 saat sonunda hücre canlılığında kontrole göre en

belirgin azalmanın 5 µg/ml dozunda olduğu ve bu dozda hücre canlılığının 15,62±4,62 olduğu, en yüksek hücre canlılığının ise 0.16 µg/ml dozunda 69,79±20,31 olduğu belirlendi. Kurkuminin 5-2.5-1.25-0.63 µg/ml dozları arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0.05$). Kurkuminin 0.08-0.16 µg/ml dozları arasında da hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0.05$). Ancak 0.31 µg/ml dozundaki hücre canlılık yüzdesi diğer tüm dozlardan istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p \leq 0.05$). Farklı harf ile gösterilen gruplarda ortalamalar kontrole göre istatistiksel olarak farklı bulundu (ANOVA-Duncan test $p < 0.001$, Tablo 4. 2).



Şekil 4. 2. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Kurkumin konsantrasyonlarının MTT hücre canlılık testi yüzdeleri

(n=5) *Ortalamalar kontrole göre istatistiksel olarak farklıdır (ANOVA-Duncan test $p \leq 0.05$)

MCF-7 hücre hattında 48 saatlik kurkumin uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ doza en yakın doz 0.31 µg/ml olarak belirlendi.

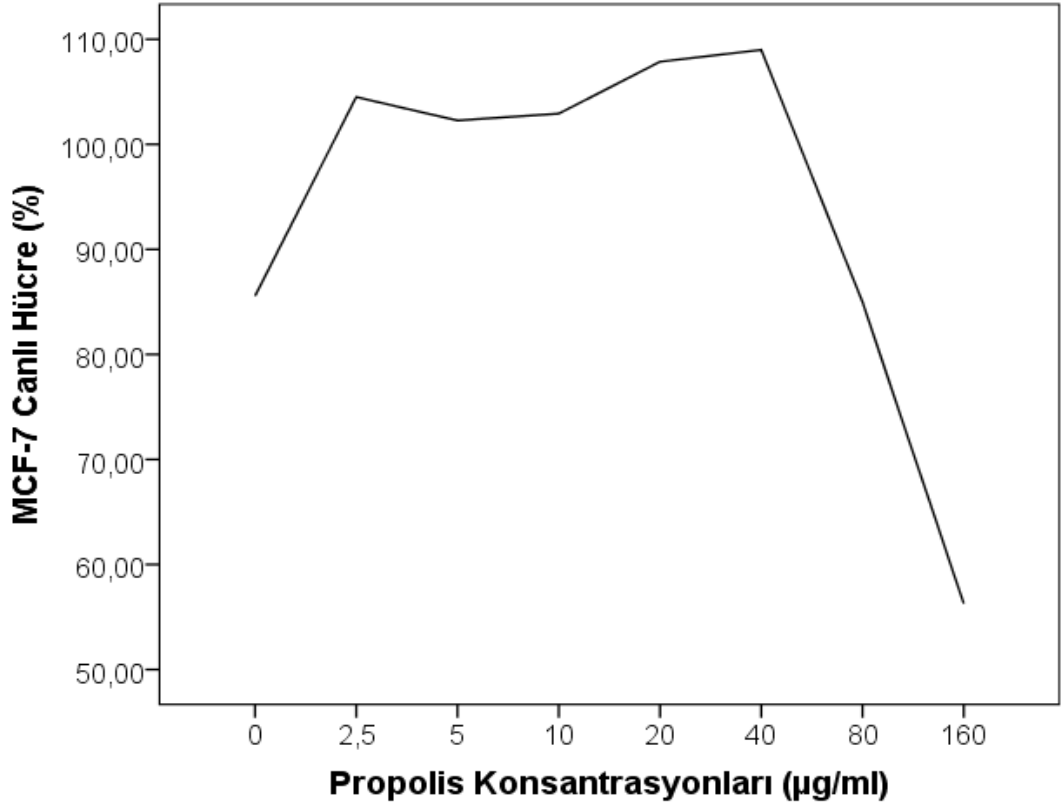
Tablo 4. 2. 0.08-5 µg/ml doz aralıklarında Kurkumin uygulamasının MCF-7 hücre canlılığına etkisi

(N=5, ortalama ± standart hata)

Doz (µg/ml)	N (Tekrar Sayısı)	48 Saat (\bar{X} +Std. D)	P Değeri
Kontrol	5	85,56±5,82 ^d	p<0.001
0.08	5	69,60±16,63 ^c	
0.16	5	69,79±20,31 ^c	
0.31	5	51,41±11,01 ^b	
0.63	5	28,79±2,66 ^a	
1.25	5	21,18±6,06 ^a	
2.5	5	19,62±6,66 ^a	
5	5	15,62±4,62 ^a	

4.1.3. Propolisin MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde 2.5-160 µg/ml doz aralıklarında uygulanan propolisin 48 saat inkübasyonu sonucu hücre canlılığı üzerine etkisi Şekil 4.3' de gösterilmiştir. Her çalışma 5 kez tekrar edilmiştir.



Şekil 4. 3. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Propolis konsantrasyonlarının MTT hücre canlılık testi yüzdeleri (n=5) (ANOVA-Duncan test $p \leq 0.05$).

Propolis ekstraktının tüm dozlarının uygulanmasından 48 saat sonra MCF-7 hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak sınırlı bir anlamlılıktan söz etmek mümkündür ($p \leq 0.05$). Propolisin 80 µg/ml dozunda hücrelerde bariz bir şekilde azalma olduğu ve 160 µg/ml 'ye çıktıkça hücrelerin yarıya yakının öldüğü gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada 48 saatlik uygulama sonunda kontrole göre en yüksek hücre canlılığının 40 µg/ml ($108,99 \pm 23,55$) en düşük hücre canlılığının ise 160 µg/ml dozunda ($56,28 \pm 7,53$) olduğu belirlendi.

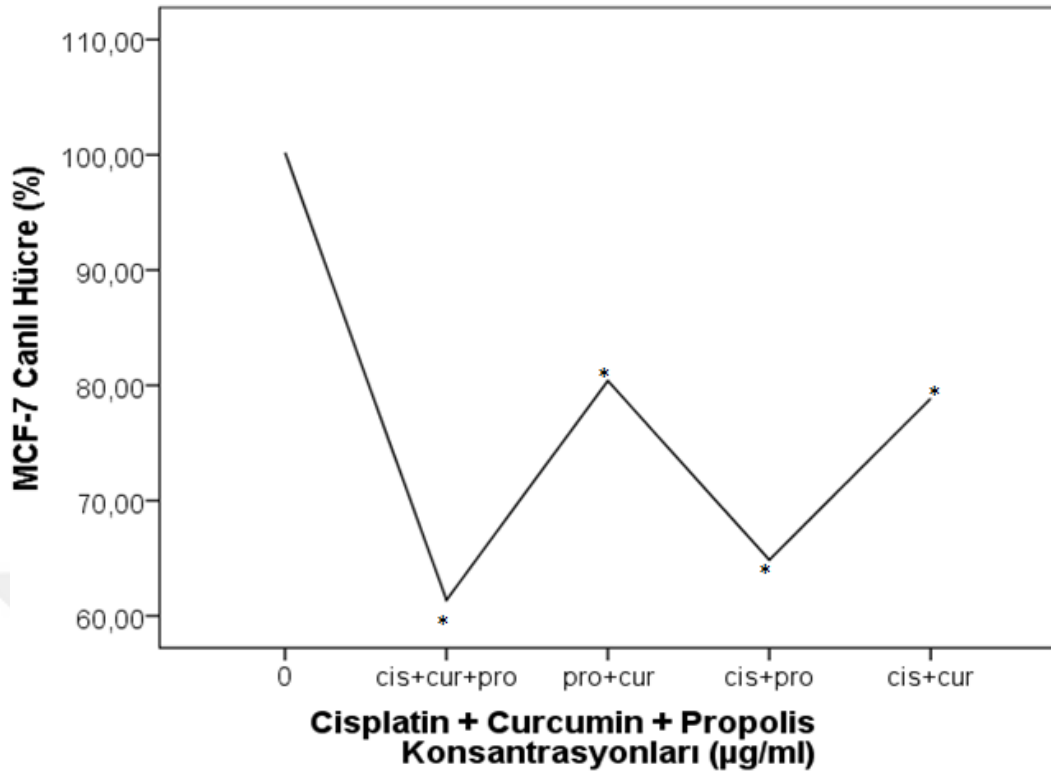
Tablo 4. 3. 2.5-160 µg/ml doz aralıklarında Propolis uygulamasının MCF-7 hücre canlılığına etkisi
(N=5, ortalama ± standart hata)

Doz (µg/ml)	N (Tekrar Sayısı)	48 Saat (\bar{X} +Std. D)	P Değeri
Kontrol	5	85,56±5,72 ^{ab}	p<0.001
2.5	5	104,50±26,50 ^b	
5	5	102,27±34,85 ^b	
10	5	102,91±32,81 ^b	
20	5	107,87±37,22 ^b	
40	5	108,99±23,55 ^b	
80	5	84,96±23,39 ^{ab}	
160	5	56,28±7,53 ^a	

MCF-7 hücre hattında 48 saatlik propolis uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ doza en yakın doz 160 µg/ml olarak belirlendi.

4.1.4. Propolis, Kurkumin ve Sisplatin' in Birlikte Uygulanması

MCF-7 hücrelerinde; propolis (160 µg/ml), kurkumin (0.31 µg/ml) ve sisplatin (3.12 µg/ml) LD₅₀ dozlarına en yakın dozların birlikte uygulamasından 48 saat sonra % hücre canlılık oranları Şekil 4. 4' te verildi. Her çalışma 5 kez tekrar edilmiştir.



Şekil 4. 4. MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Sisplatin+Kurkumin+Propolis konsantrasyonlarının MTT canlılık testi yüzdeleri (n=5) *Ortalamalar kontrole göre istatistiksel olarak farklıdır (ANOVA-Duncan test $p \leq 0.05$).

Yapılan çalışmada LD₅₀ dozlarına en yakın dozların MCF-7 hücrelerine birlikte uygulanmasından 48 saat sonra hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ($p \leq 0.05$). 48 saatlik uygulama sonunda kontrole göre en düşük hücre canlılığı Sisplatin+kurkumin+propolis dozlarının üçlü kombininde $61,37 \pm 2,00$ en yüksek hücre canlılığı ise Propolis+Kurkumin dozlarının ikili kombininde $80,39 \pm 5,20$ gözlemlendi. Propolis (160 µg/ml) + Kurkumin (0.31 µg/ml) + Sisplatin (3.12 µg/ml) dozlarının birlikte uygulanması ile Propolis (160 µg/ml) + Sisplatin (3.12 µg/ml) birlikteliği arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0.05$). Propolis (160 µg/ml) + Kurkumin (0.31 µg/ml) dozlarının birlikte uygulanması ile Sisplatin (3.12 µg/ml) + Kurkumin (0.31 µg/ml) birlikteliği arasında hücre canlılığı açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p \geq 0.05$). Farklı harf ile gösterilen gruplarda ortalamalar kontrole göre istatistiksel olarak farklıdır (ANOVA-Duncan test $p < 0.001$, Tablo 4.4)

Tablo 4. 4. Sisplatin+Kurkumin+Propolis dozlarının MCF-7 hücre canlılığına etkisi

(N=5, ortalama \pm standart hata)

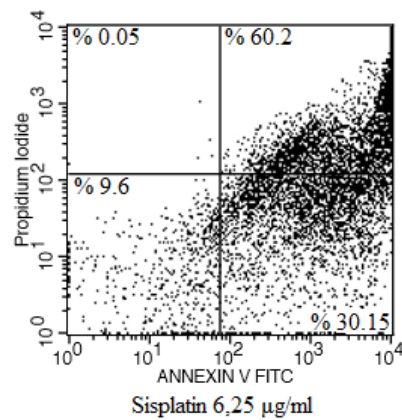
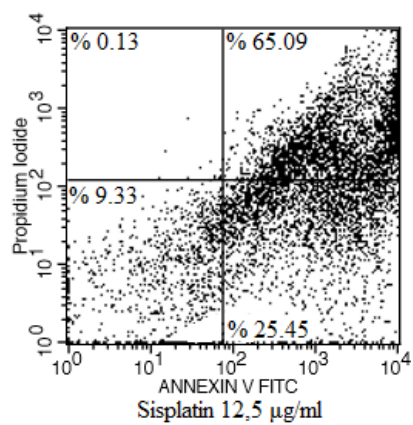
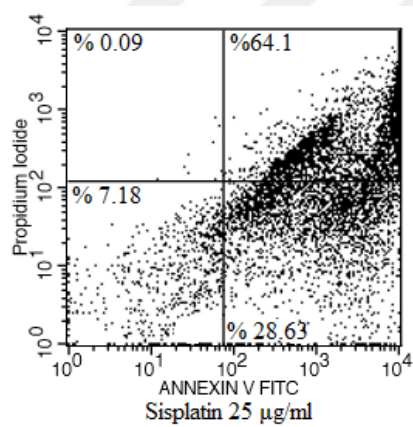
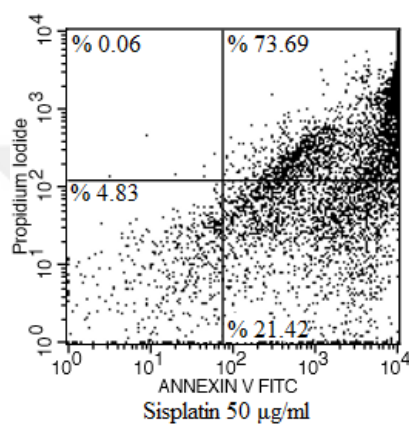
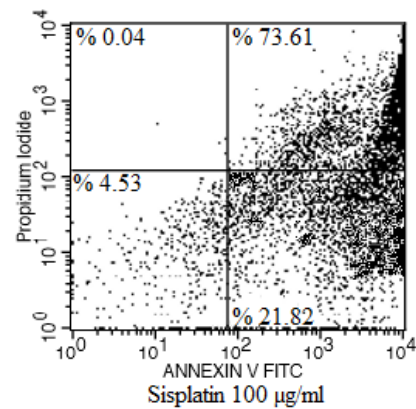
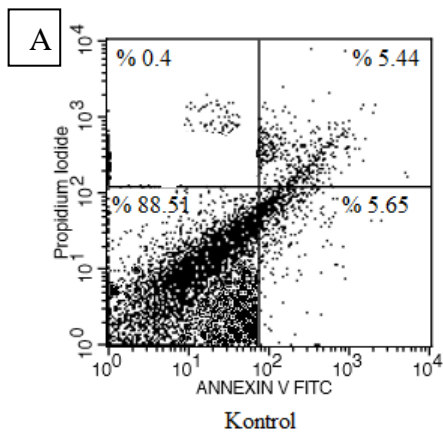
Doz ($\mu\text{g/ml}$)	N (Tekrar Sayısı)	48 Saat (\bar{X} +Std. D)	p Değeri
Kontrol	5	100,20 \pm 6,47 ^c	p<0.001
Sisplatin+Kurkumin	5	78,85 \pm 8,71 ^b	
Sisplatin+Propolis	5	64,85 \pm 3,18 ^a	
Propolis+Kurkumin	5	80,39 \pm 5,20 ^b	
Sisplatin+Kurkumin+Propolis	5	61,37 \pm 2,00 ^a	

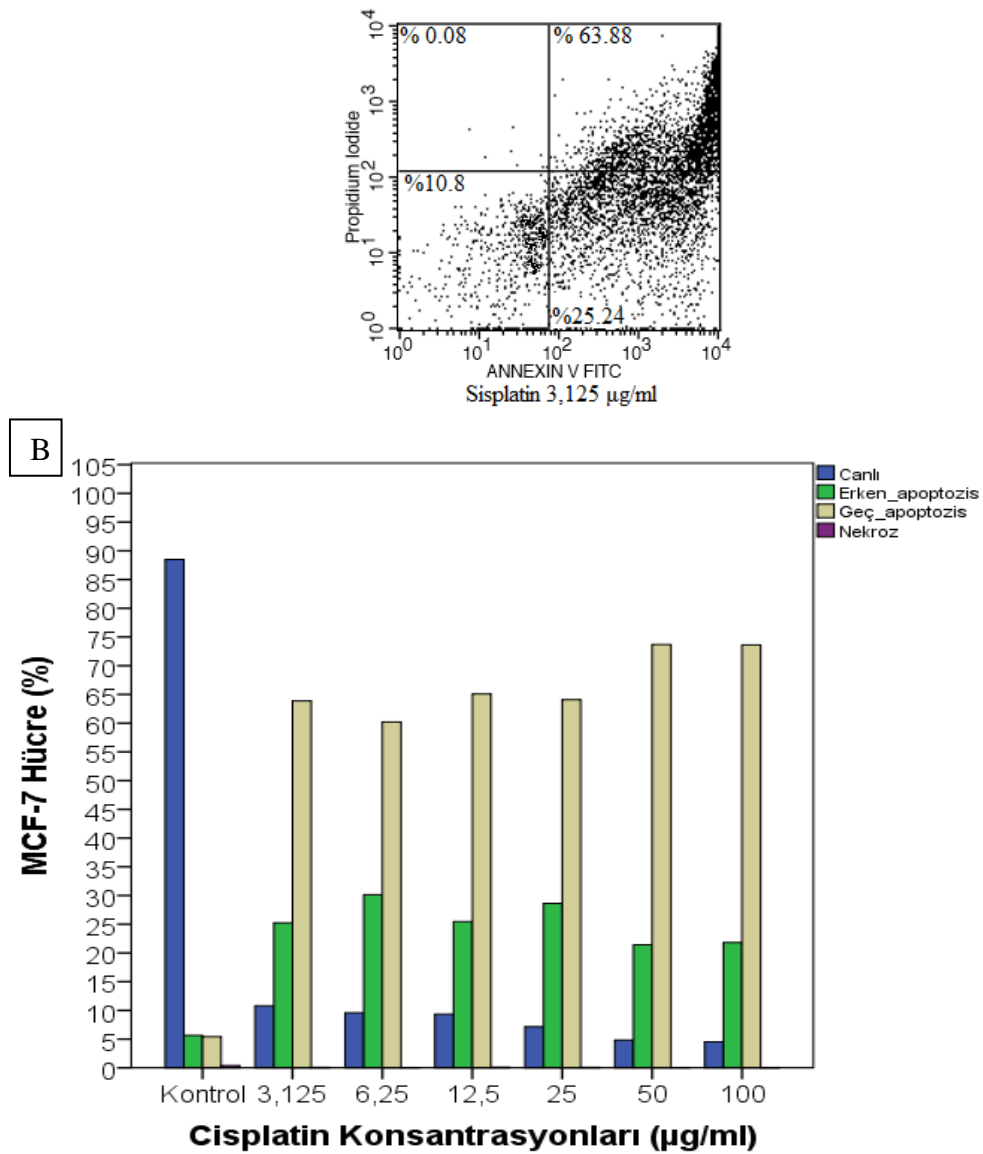
4.2. AnnexinV/FITC Hücre Apoptozis Analizleri

4.2.1. Sisplatin Apoptozis Sonuçları

Çalışmamızda sisplatin ekstraktının MCF-7 hücreleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla canlı, ölü ve apoptotik hücre yüzdeleri Flow sitometre ile analiz edildi. Bu yöntemle göre AnnexinV ve PI ile muamele edilen kontrol ve uygulama gruplarındaki hücreler canlı, ölü ya da apoptotik olma durumlarına göre boyanmaktadır.

Yapılan analizler sonucunda 48 saatlik sisplatin uygulaması sonucunda MCF-7 hücre hattında apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 100 $\mu\text{g/ml}$ dozunda, en düşük apoptotik oranın ise 3.125 $\mu\text{g/ml}$ dozunda olduğu saptandı. Flow sitometre analizi ile yapılan çalışma sonucunda boyanan hücrelerin toplam sayıları hücrelere oranla canlı, ölü ve apoptotik hücre yüzdelerinin grafik olarak gösterimi ise Şekil 4. 5' te verildi.



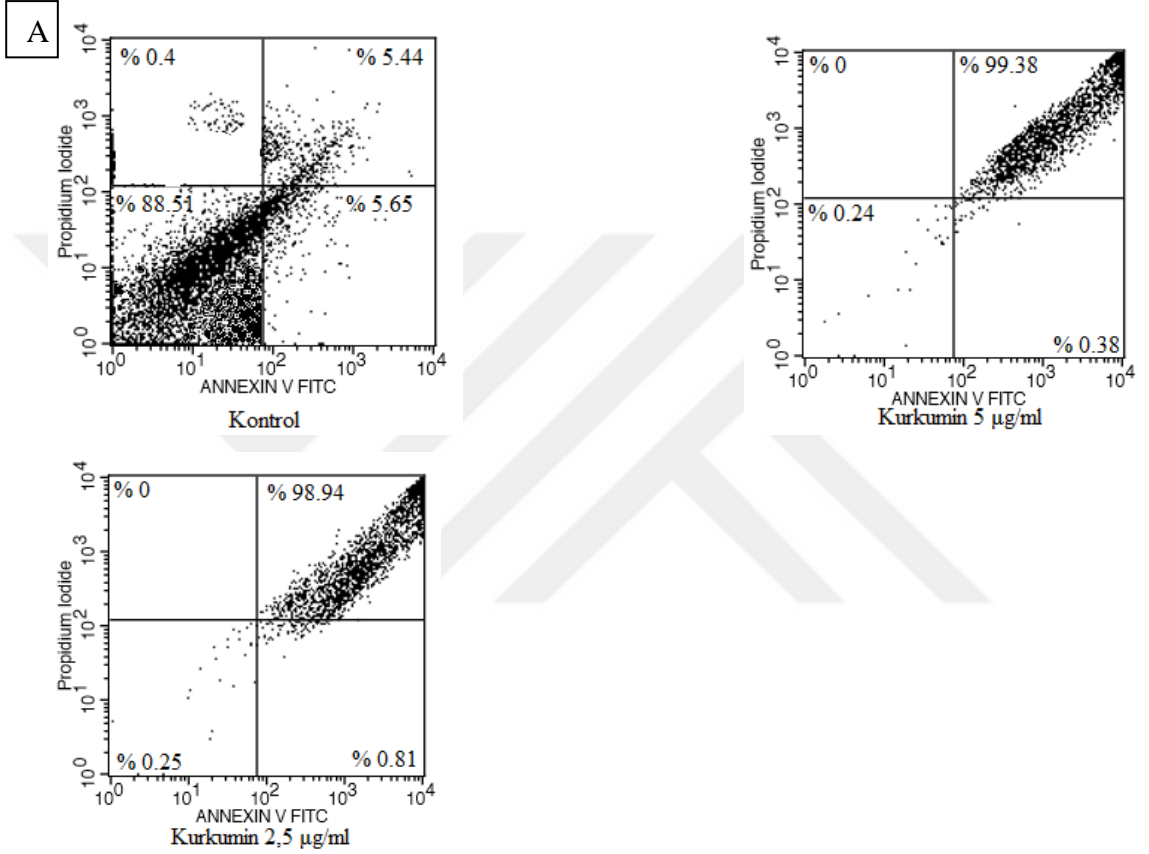


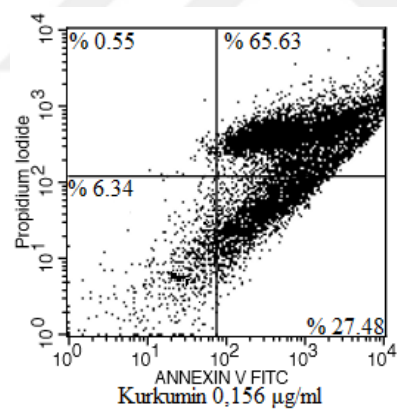
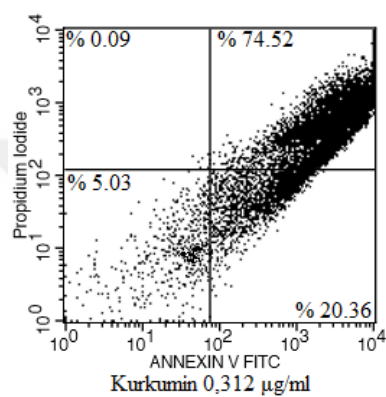
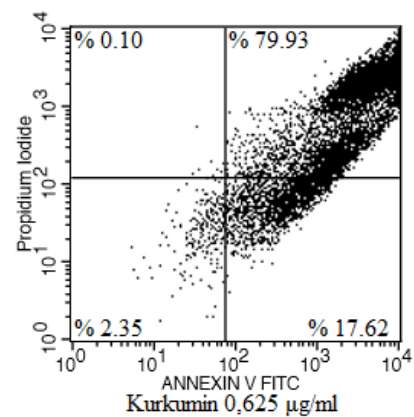
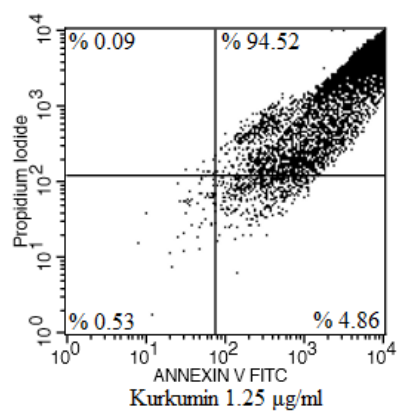
Şekil 4. 5. A) MCF-7 hücrelerinde Sisplatin konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Sisplatin AnxinV/FITC grafiği

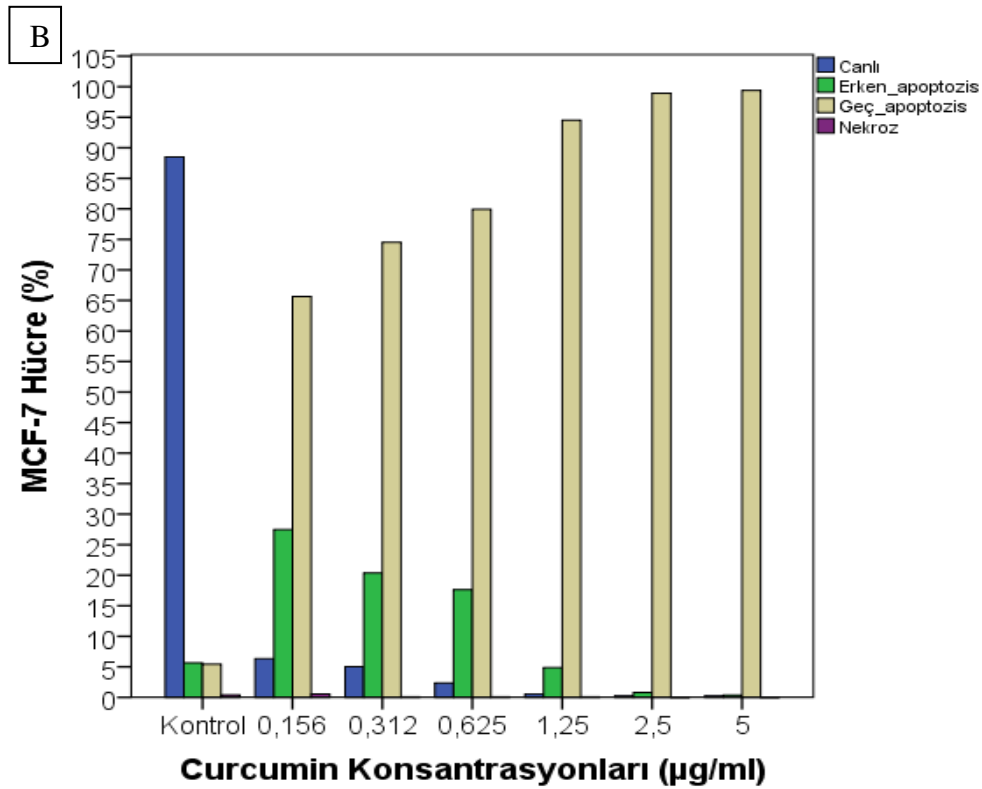
4.2.2. Kurkumin Apoptozis Sonuçları

Çalışmamızda kurkumin ekstraktının MCF-7 hücreleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla canlı, ölü ve apoptotik hücre yüzdeleri Flow sitometre ile analiz edildi. Bu yöntemle göre AnnexinV ve PI ile muamele edilen kontrol ve uygulama gruplarındaki hücreler canlı, ölü ya da apoptotik olma durumlarına göre boyanmaktadır.

48 saatlik kurkumin uygulaması sonucunda MCF-7 hücre hattında apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 5 $\mu\text{g/ml}$ dozunda, en düşük apoptotik oranın ise 0.156 $\mu\text{g/ml}$ dozunda olduğu saptandı. Flow sitometre analizi ile yapılan çalışma sonucunda boyanan hücrelerin toplam sayıları hücrelere oranla canlı, ölü ve apoptotik hücre yüzdelerinin grafik olarak gösterimi







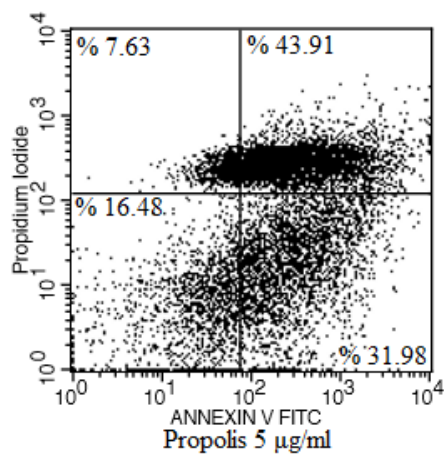
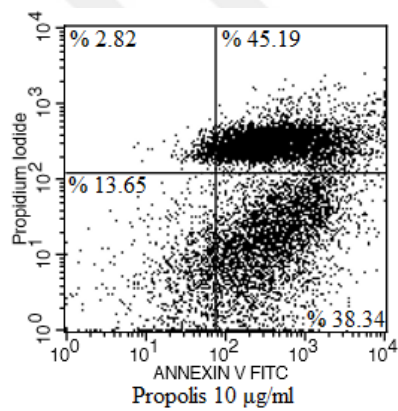
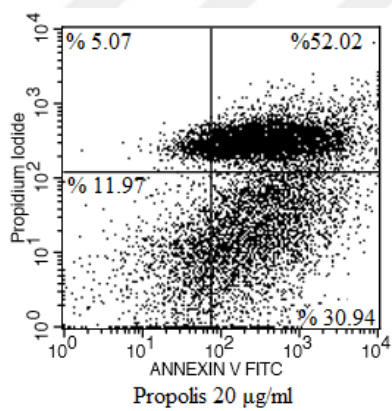
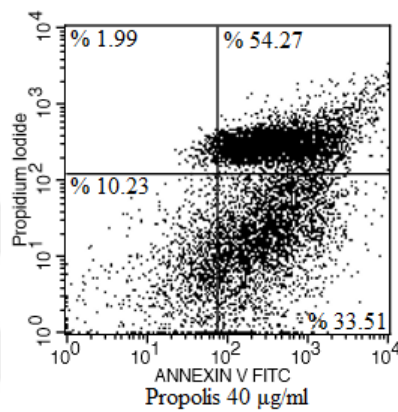
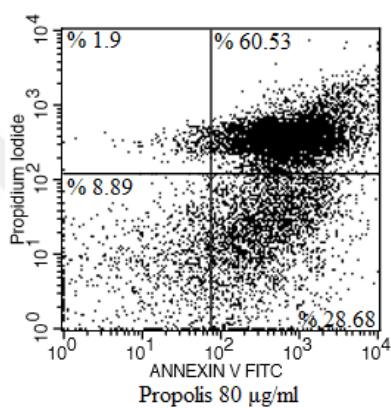
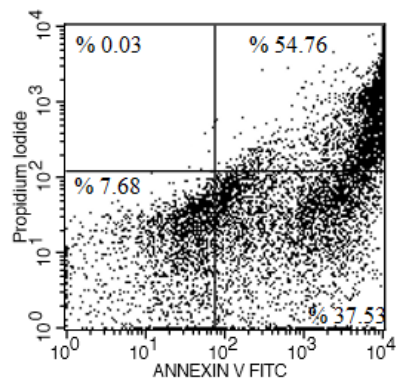
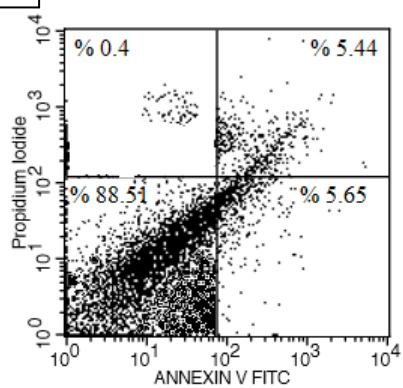
Şekil 4. 6. A) MCF-7 hücrelerinde Kurkumin konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Kurkumin AnnexinV/FITC grafiği

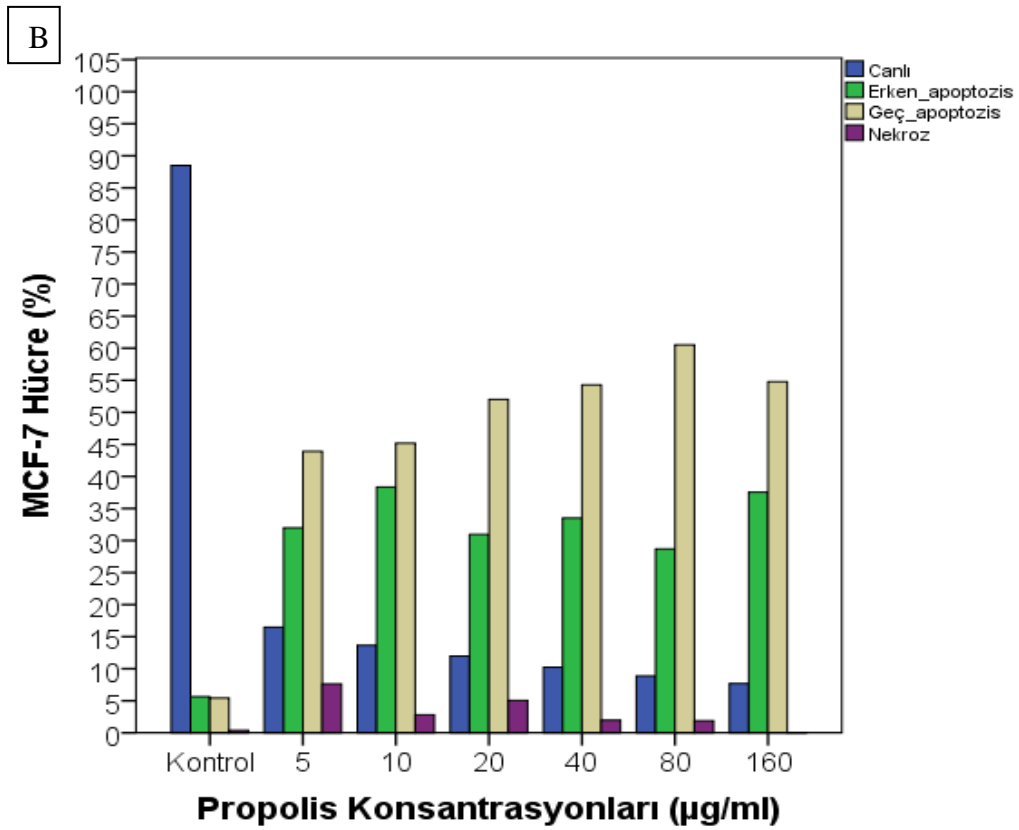
4.2.3. Propolis Apoptozis Sonuçları

Çalışmamızda propolis ekstraktının MCF-7 hücreleri üzerine apoptotik etkisini belirlemek amacıyla canlı, ölü ve apoptozise uğramış hücre yüzdeleri Flow sitometre ile analiz edildi. Bu yöntemle göre AnnexinV ve PI ile muamele edilen kontrol ve uygulama gruplarındaki hücreler canlı, ölü ya da apoptotik olma durumlarına göre boyanmaktadır.

48 saatlik propolis uygulaması sonucunda MCF-7 hücre hattında apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 160 µg/ml dozunda, en düşük apoptotik oranın ise 5 µg/ml dozunda olduğu saptandı. Flow sitometre analizi ile yapılan çalışma sonucunda kontrole göre propolisin farklı konsantrasyonlarındaki canlı, ölü ve apoptotik hücre yüzdelerinin grafik olarak gösterimi Şekil 4.7' de verildi.

A





Şekil 4. 7. A) MCF-7 hücrelerinde Propolis konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Propolis AnnexinV/FITC grafiği

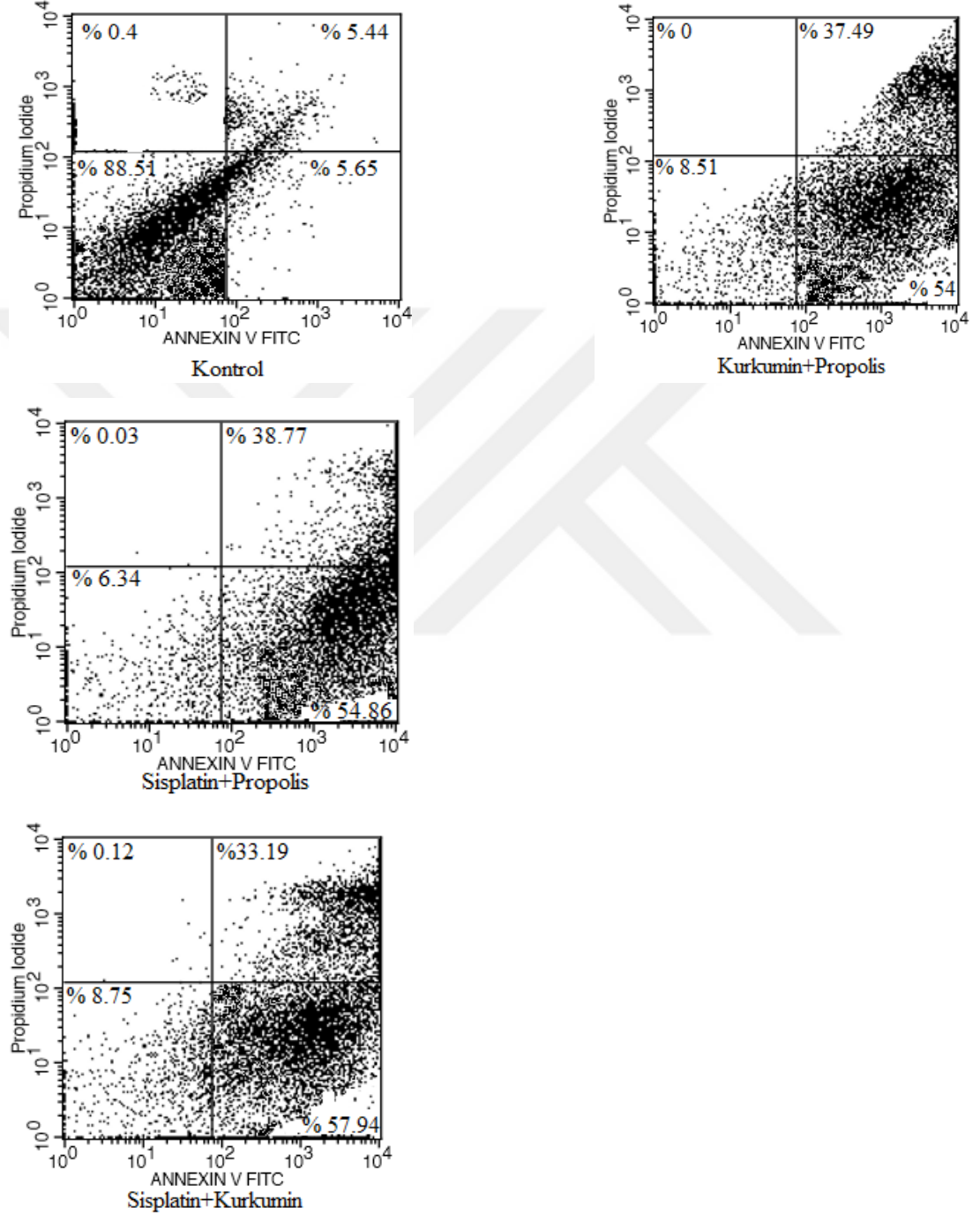
4.2.4. Propolis, Kurkumin ve Sisplatin Birlikte Uygulandığı Dozların Apoptozis Sonuçları

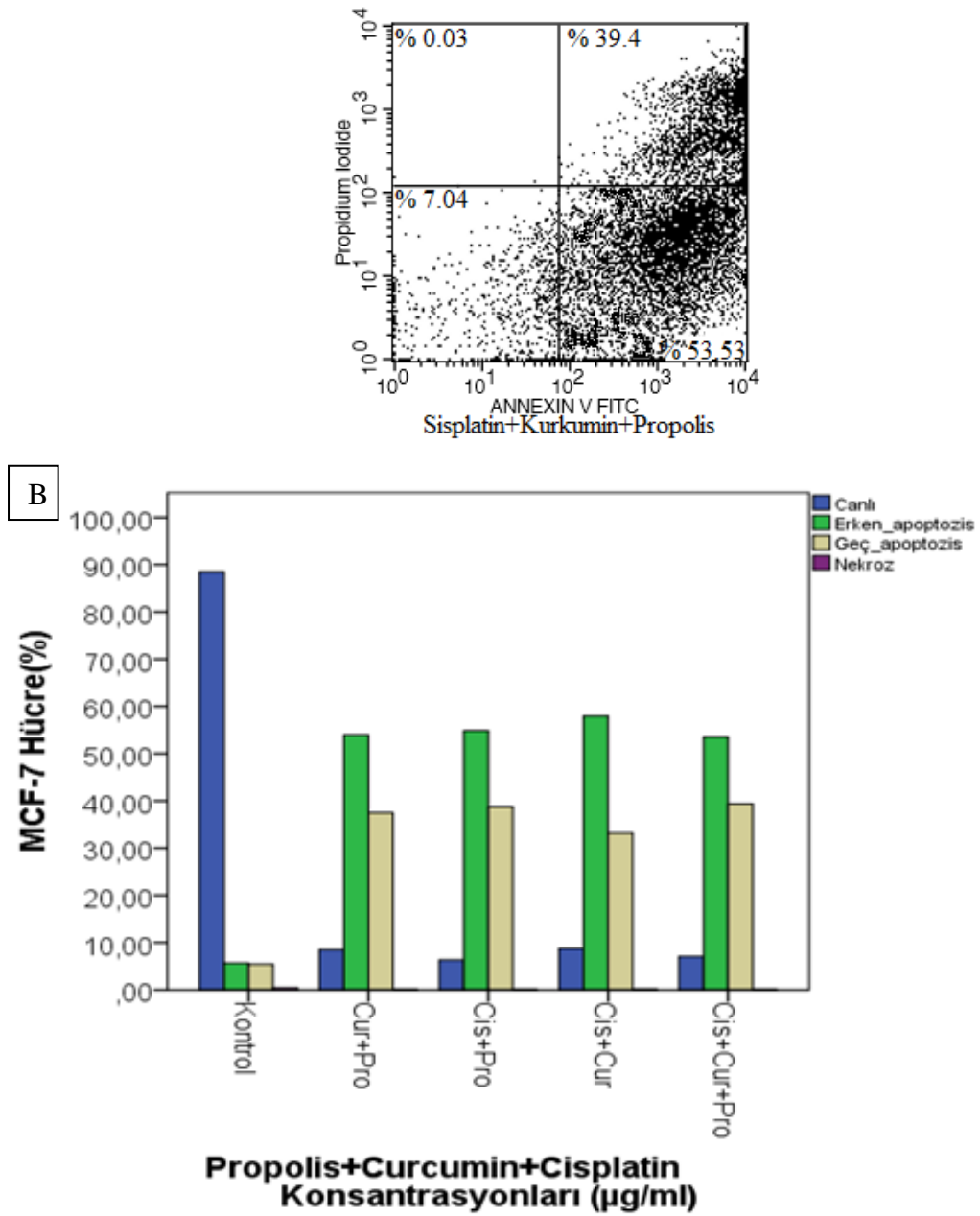
Çalışmamızda propolis, kurkumin ve sisplatin' in LD₅₀ dozlarına en yakın konsantrasyonlarının kombinasyonunun MCF-7 hücreleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla canlı, ölü ve apoptotik hücre yüzdelerine etkisi Flow sitometre ile analiz edildi. Bu yöntemle göre AnnexinV ve PI ile muamele edilen kontrol ve uygulama gruplarındaki hücreler canlı, ölü ya da apoptotik olma durumlarına göre boyanmaktadır.

48 saatlik Propolis, Kurkumin ve Sisplatin' in LD₅₀ dozlarına en yakın konsantrasyonların uygulanması sonucunda MCF-7 hücre hattında apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının sisplatin+propolis, en düşük apoptotik oranın ise sisplatin+kurkumin birlikteliğinde olduğu saptandı. Flow sitometre analizi ile yapılan

çalışma sonucunda boyanan hücrelerin toplam sayıları hücrelere oranla canlı, ölü ve apoptotik hücre yüzdelerinin grafik olarak gösterimi ise Şekil 4. 8' de verildi.

A





Şekil 4. 8. A) MCF-7 hücrelerinde Kurkumin+Propolis+Sisplatin konsantrasyonlarının Flow sitometre ile belirlenen canlı, ölü ve apoptotik hücrelerin yüzdeleri B) MCF-7 hücrelerinde 48 saatlik Kurkumin+Propolis+Sisplatin AnnexinV/FITC grafiği

(Cur: Kurkumin, Pro: Propolis, Cis: Sisplatin)

5. TARTIŞMA

Kanser; bazen hücre sinyal yollarında meydana gelen deformasyonlar sonucunda ortaya çıkan bazen de genetik öyküyü içeren heterojen bir hastalıktır (Luo 2009). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre ölümlerin % 63'ü kanser ile ilişkilidir (Monteiro 2014). Günümüzde kanserle mücadelede başvurulan esas metodlar (cerrahi, kemoterapi, radyoterapi, hormon replasmanı ve immunoterapi) ile birlikte tamamlayıcı ve alternatif tedavi (TAT) amacıyla doğal ürünler de kullanılmaktadır. Özellikle kemoterapi kanser tedavisinde sıklıkla başvurulan yöntemdir. Fakat bazı dezavantajlar (etkisizlik, ciddi toksisite ve çoklu ilaç direnci) kemoterapinin başarı yüzdesini düşürmektedir (Tan 2011). Bu yüzden doğal ürünler yeni keşfedilecek ilaçlar için hammadde olarak görülmektedir. Doğal ürünlerin (ekstraktlar ya da izole edilen bileşikler) antikanser etkinliğinin araştırılması son dönemlerde ilgi çeken çalışma alanlarından birisi haline gelmiştir (Taraphdar 2001).

Kav ve arkadaşlarının (2008) ülkemizde kanser hastalarının kullandıkları TAT yöntemlerini tespit etmeye yönelik yaptıkları çalışmada, sıklıkla bitkisel tedavi yöntemlerinin kullanıldığını belirtmişlerdir. Bu araştırma sonucuna göre de ülkemizde en çok kullanılan bitkinin ısırgan otu olduğu tespit edilmiştir.

Dünyada ve ülkemizde birçok solid tümörün (baş, boyun, akciğer, testis, over ve meme kanseri gibi) tedavisinde kemoterapötik ajan olarak sisplatin kullanılmaktadır (Rosenberg 1985, Hanigan ve Devarajan, 2003; Yao and ve ark., 2007). Sisplatin, platin kompleksi içeren geniş spektrumlu organik bir kemoterapötik ajandır (Kostova, 2006; Arnesano ve Natile, 2008). Fakat sisplatinin toksik etkileri bulunmaktadır (Dugbartey 2016). Kemoterapötik ilaçların toksik etkisini azaltmak amacıyla yapılan çalışmalarda bitkisel ekstraktlar kullanılarak antikanser etkinliğin artırılması araştırılmaktadır (Adahoun 2016, Chen 2015, Perrone 2015).

Güleç ve arkadaşlarının (2004) sisplatin nefrotoksisitesine karşı *Ginkgo biloba* ekstratı ile yaptığı deneysel çalışmalar sonucunda ekstraktın sisplatinin toksik etkisini azalttığı belirlenmiştir.

Kim ve arkadaşları (2006) yaptıkları bir çalışmada; LLC-PK1 kanser hücreleri üzerinde *Brassica capa* bitkisinin etanol ekstraktının sisplatinin neden olduğu nefrotoksisiteye karşı koruyucu olduğu sonucuna varmışlardır.

Joy ve arkadaşlarının (2009) albino fareler üzerine yaptıkları çalışmada; bir gruba 12 mg/kg dozunda sisplatin diğer gruba da sisplatine ek olarak *Rubia cordifolia* bitkisinin ekstresi verilmiştir. Deneysel çalışma sonuçlarından elde edilen verilere göre bitki ekstresinin sisplatinin neden olduğu renal hasarı azalttığı belirtilmiştir.

Sisplatinin kanser tedavisinde etkinliğini artırmak, direnç gelişimini ve toksisitesini azaltmak için diğer kemoterapötik ajanlar ve antioksidan maddeler ile kombine kullanımı neticesinde olumlu sonuçlar alınabileceği literatürdeki çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Fakat toksik etkilerin minimize edilebilmesi için daha fazla invitro ve invivo çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Florea 2011).

Çalışmamızda ilk olarak her bir ekstraktın ve kemoterapötik ajanın (sisplatin) MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine tek tek inoküle edilip inkübasyonu sağlanmış ve MTT canlılık testleri yapılmıştır. Ardından LD₅₀'ye en yakın dozları belirlenip kombinleri yapılarak apopitoz testinde sinerjistik etkileri değerlendirilmiştir.

Suberu ve arkadaşlarının (2014) Artemisia çayı ve sisplatinin MCF-7 hücreleri üzerine sitotoksitesini araştırdıkları bir çalışmada; çayın ana bileşeni olan 3-caffeoylquinic asitin IC₅₀ değeri 126. 98 µg/ml bulunurken, sisplatinin IC₅₀ değeri 5.75 µg/ml bulunmuştur.

Nurcahyanti ve arkadaşları 2016'da yapmış olduğu bir çalışmada; sisplatinin servikal ve kolon kanser hücreleri (HeLa ve Caco-2) ile 24 saat inkübasyonu sonrasında MTT yöntemi ile IC₅₀ (%50 inhibe edici konsantrasyon) değerlerini sırası ile 54.07 µM ve 96.38 µM olarak belirlemişlerdir. Hepatoselüler karsinoma hücrelerinde (Hep-G2 ve SK-HEP-1) ise IC₅₀ değerlerini sırası ile 14.87 µM ve 77.89 µM olarak tespit etmişlerdir.

MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinde 1.56-100 µg/ml doz aralıklarında uygulaması yapılan sisplatinin 48 saat sonunda hücre canlılığında kontrole göre en belirgin azalmanın 100 µg/ml dozunda olduğu ve bu dozda hücre canlılığının 18,17±6,93 olduğu, en yüksek hücre canlılığının ise 1.56 µg/ml dozunda ve hücre canlılığının 89,99±8,46 olduğu belirlendi. Daha sonra MCF-7 insan meme kanseri hücre hattında 48 saatlik sisplatin uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm

oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ dozuna en yakın doz 3.12 µg/ml olarak belirlendi. MCF-7 insan meme kanseri hücre hattında 48 saatlik sispilin uygulaması sonucunda apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 100 µg/ml dozunda, en düşük apoptotik oranın ise 3.125 µg/ml dozunda olduğu saptandı.

Çalışmamızda bitki ekstraktı olarak kullanılan kurkumin antitümoral, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı birçok çalışmaya konu olmuş bir bitki olmasına karşın mekanizması tam anlamıyla anlaşılamamıştır (Gupta 2012, Vera Ramirez 2013). Kurkuminin MCF-7, HeLa ve HepG2 gibi çeşitli hücreler üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar literatürde mevcuttur.

Koohpar ve arkadaşları (2015) MCF-7 hücreleri ile yapmış olduğu bir çalışmada; kurkuminin 24, 48 ve 72 saat inkübasyonlarında IC₅₀ değerlerini MTT yöntemi ile sırasıyla 79.58 µg/ml; 53.18 µg/ml; 30.78 µg/ml olarak belirlemişlerdir.

Ding ve arkadaşları (2015) yapmış oldukları çalışmada; MCF-7, HeLa ve HepG2 hücrelerinin kurkumin ile 72 saat inkübasyonu sonucunda IC₅₀ değerlerini sırasıyla 9.40 µg/ml, 17.67 µg/ml ve 22.88 µg/ml olarak tespit etmişlerdir.

Abdel-Lateef ve arkadaşlarının (2016) kurkuminin HepG2 hücreleri üzerinde antikanser etkisini araştırdıkları bir çalışmada; 72 saat inkübasyon sonunda IC₅₀ değerinin 41.5 µg/ml (~113 µM) olduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada 0.08-5 µg/ml doz aralıklarında kurkumin uygulamasının 48 saat sonunda MCF-7 hücre canlılığında kontrole göre en belirgin azalmanın 5 µg/ml dozunda olduğu ve bu dozda hücre canlılığının 15,62±4,62 olduğu, en yüksek hücre canlılığının ise 0.16 µg/ml dozunda ve hücre canlılığının 69,79±20,31 olduğu belirlenmiştir. Ardından 48 saatlik kurkumin uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ dozuna en yakın dozun 0.31 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz LD₅₀ dozuna en yakın kurkumin dozunun 48 saatlik uygulaması sonucunda apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 5 µg/ml dozunda, en düşük apoptotik hücre oranının ise 0.156 µg/ml dozunda olduğu saptandı.

Çalışmamızda kullandığımız diğer bitki ekstraktımız ise hem *in vivo* hem de *in vitro* araştırmalarda kullanılan propolistir. Propolisin içeriğindeki aktif bileşenlerin kanser hücrelerinin büyümesini engelleyerek, apoptozisi ve antitümöral etkinliğı arttırdığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Banskota ve arkadaşları (2002), murin kolon 26-L5 karsinom hücre serileri üzerinde metanollü Hollanda propolisinin antiproliferatif etkisini MTT yöntemiyle araştırmışlar ve IC50 dozunun 3.5 µg/ml olduğunu göstermişlerdir.

Kimoto ve arkadaşları (1999) dişi ratlar üzerinde yapmış oldukları *invivo* çalışmalarında, propolis verilen gruplarda meme karsinomlarının oluş sıklığı ve çeşitliliğinin önemli oranda azaldığını tespit etmişlerdir.

Russo ve arkadaşları (2004) tarafından KB (insan ağız epidermoid karsinoma hücreleri), Caco-2 ve DU-145 (androjen-duyarlı prostat kanser hücreleri) hücre hatları üzerine yapılan bir çalışmada, Şili'den elde edilen propolisin çeşitli konsantrasyonlarının (5, 10, 20, 40, 80 µg/ml) antiproliferatif aktivitesi incelenmiştir. Bu çalışma sonunda propolisin 80µg/ml konsantrasyonda tümör hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir.

Bufalo ve arkadaşları (2010) HEp-2 hücreleri üzerinde yaptıkları *invitro* bir çalışmada, propolis ekstraktının 25, 50 ve 100 µg/µL konsantrasyonlarının hücre canlılığını azalttığını gözlemlerken 5 ve 10 µg/µL konsantrasyondaki propolisin hücre canlılığına etkisinin olmadığını belirtmişlerdir.

Akbulut 2014 yılında yapmış olduğu "Türk Propolisinin Sulu Ekstraktının İnsan Laringeal Epidermoid Karsinoma (Hep-2) Hücre Serilerinde Hücre içi Serbest Kalsiyum Ve Hidrojen Peroksit Düzeylerine Etkisi" tez çalışmasında LD₅₀ dozunu 70 µg/mL olarak rapor etmiştir.

Kamiya ve arkadaşlarının (2012) MCF-7 ve fibroblast hücreleri üzerine etanollü Brezilya kırmızı propolis ekstraktının endoplazmik retikulum yolağı ile apoptoza etkisini araştırdıkları çalışmada; propolisin kaspaz-3 aktivitesi ile MCF-7 hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığı, ancak fibroblastların canlılığı üzerine etki

etmediği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, propolisin MCF-7 hücrelerinde apoptozisi arttırdığı rapor edilmiştir.

Carballo ve arkadaşları (2008) çeşitli hücre serileri (kolon, over ve prostat karsinoma, nöroblastoma) ve Küba propolis ekstraktı ile yaptıkları çalışmada 5-23µg/ml'lik konsantrasyonlarda propolisin kanser hücrelerinde sitotoksik etki yaptığını bildirmişlerdir.

Frezza ve arkadaşları (2013) HEp-2 ve Hela hücreleri üzerinde kırmızı propolisin çeşitli konsantrasyonlarının (10-150 µg/mL) sitotoksik etkisini araştırmışlar ve 70 µg/mL konsantrasyonda antitümoral etkinin daha anlamlı olduğunu belirlemişlerdir.

Bu çalışmada, MCF-7 hücreleri ile propolisin çeşitli konsantrasyonlarının (2.5-160 µg/ml) 48 saatlik inkübasyonu ile hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak sınırlı bir anlamlılıktan söz etmek mümkündür. Propolisin 80 µg/ml dozunda hücrelerde bariz bir şekilde azalma olduğu ve 160 µg/ml' ye çıktıkça hücrelerin yarıya yakınının öldüğü gözlemlenmiştir. Çalışmada 48 saatlik uygulama sonunda kontrole göre en yüksek hücre canlılığının 40 µg/ml (108,99±23,55) en düşük hücre canlılığının ise 160 µg/ml dozunda (56,28±7,53) olduğu belirlendi. MCF-7 hücre hattında 48 saatlik propolis uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ doza en yakın doz 160 µg/ml olarak belirlendi. Literatürlerdeki IC₅₀/LD₅₀ dozları ile çalışma sonuçlarımızı karşılaştırdığımızda bu farklılığın esas nedeninin propolisin farklı bölgelerden toplanmasından kaynaklandığını, ayrıca farklı kanser hücre hatlarına uygulanan propolisin, farklı sitotoksitelere neden olabileceğini düşünmekteyiz. MCF-7 insan meme kanseri hücre hattında 48 saatlik propolis uygulaması sonucunda apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 5 µg/ml dozunda, en düşük apoptotik oranın ise 0.156 µg/ml dozunda olduğu saptandı.

Propolis ile yaptığımız bu çalışmada apoptozis ve hücre canlılık sonuçları arasında uyum bulunamamıştır. Bu uyumsuzluğun çalışma kaynaklı ya da kullanılan kite bağlı olduğu düşünülmektedir.

Literatürde kurkumin ve propolisin farklı konsantrasyonlarının, farmakolojik etkinlikleri bilinen antikanser ilaçlarla kombinasyonlarının MCF-7 hücre canlılığı üzerine etkilerini araştıran az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında önemi her geçen gün artan bitki ekstraktlarının (Kirkumin ve Propolis) sisplatin ile kombine kullanımının MCF-7 hücrelerinin canlılığı üzerine sinerjistik ve/veya antagonistik etkileri incelenmiştir. Bu anlamda bu tez çalışması ülkemizde yapılan sayılı çalışmalardan biri gibi görünmektedir.

Ueki ve arkadaşlarının (2013) fareler üzerinde yapmış olduğu sisplatin+kirkumin kombine çalışmasında; kirkuminin sisplatin kaynaklı nefrotoksisiteyi azalttığı belirtilmiştir. Çalışma için fareleri dört gruba (kontrol, kirkumin, sisplatin ve sisplatin + kirkumin) ayırmışlardır. 20 mg/kg vücut ağırlıkta hesaplanan kirkumin ve sisplatin, farelere intraperitoneal olarak enjekte edilmiş ve 72 saatlik sonra etkilerine bakılmıştır. Çalışma sonunda kirkuminin, sisplatinin yol açtığı toksik etkiyi azalttığı, nekrozu önlediği ve serumdaki TNF- α seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir.

Mooammed Wasem ve arkadaşlarının (2013) yapmış oldukları *invivo* çalışmada 200mg/kg kirkumin sıçanlara oral olarak, 6mg/kg sisplatin ise intraperitoneal olarak verilmiştir. Daha sonra sisplatin+kirkumin kombine olacak şekilde sıçanlara 24 saat uygulandıktan sonra sıçanlar sakrifiye edilmiştir. Çalışma sonucunda, sisplatinin immün sistemi yok ederek, mitokondride yapısal ve fonksiyonel hasara sebep olduğu ancak kirkuminin bu hasarları ortadan kaldırdığı gözlenmiştir. Ayrıca sisplatinin tek dozunun dahi hepatik hasara yol açtığı rapor edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, sisplatinin sistemik toksisitede belirleyici olduğunu, kirkuminin ise bu toksik etkiyi azalttığını göstermiştir.

Oršolić ve arkadaşları (2013) fareler üzerinde oluşturulan ehrlich asit tümöründe (EAT) propolis ve hipertermal intraperitoneal kemoterapinin (HIPEC) sisplatin ile arasındaki sinerjizmi araştırmışlardır. Farelere öncelikle EAT hücrelerinin implantasyonu yapılmıştır. Fareler 3 gün boyunca 50 mg/kg suda çözünür propolis (WSDP) ile tedavi edilmiştir. WSDP ile tedavisi yapılan farelere 37°C' de 5 mg/kg sisplatin (CIS) enjekte edilmiştir. Çalışma sonunda WSDP + 5 mg/kg CIS kombinasyonunun, tümör büyümesini inhibe ettiği gözlenmiştir. Ayrıca

WSDP+CIS kombinasyonunun farelerin hayatta kalma oranını (%115.25) arttırdığı da belirtilmiştir. Daha sonra çalışmada HIPEC ile WSDP kombinasyonuna bakılmıştır. WSDP' nin farelerdeki hayatta kalma oranını (%160.3) arttırdığı ve sisplatinin toksisitesini de azalttığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda MCF-7 hücrelerinde; propolis (160 µg/ml), kurkumin (0.31 µg/ml) ve sisplatin (3.12 µg/ml) LD₅₀ dozlarına en yakın dozların birlikte uygulamasından 48 saat sonra kontrole göre en düşük % hücre canlılıklarının sisplatin+kurkumin+propolis dozlarının üçlü kombininde (61,37±2,00), en yüksek % hücre canlılıklarının ise propolis+kurkumin dozlarının ikili kombininde (80,39±5,2) olduğu belirlendi.

Literatürde kurkumin+propolisin ikili, sisplatin+kurkumin+propolisin üçlü kombinlerinin MCF-7 hücrelerinde % hücre canlılığı ve apoptozise etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar literatür ile karşılaştırılmadı.

Buradan hareketle, çalışmamızda kullanılan kurkumin ve propolis ekstraktlarının farklı kanser hücre hatlarında ve *invivo* deneylerle devam ettirilmesinin, klinik çalışmaların önünü açabileceği kanısındayız. Bu çalışmalardan da elde edilecek verilerle Tamamlayıcı ve Alternatif Tedaviye yeni bir umut, kemoterapiye ek olarak kurkumin ve propolisin kansere karşı kullanılabilceği düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Ar-Ge Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda; bitkisel kaynaklı fenolik bileşiklerden olan propolis ve kurkumin ile kemoterapide sıklıkla kullanılan sisplatinin hem tek tek hem de kombin olacak şekilde uygulamalarının, MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Benzer çalışmaların sonuçlarının da katkılarıyla, sisplatin ile yapılan tedavideye ek olarak propolis ve kurkumin kullanımının antikanser tedaviye yeni bir

bakış açısı katacağı düşünülmektedir. Fakat bu bileşiklerin uzun dönem toksisitesinin değerlendirilmesi için daha fazla invitro ve invivo çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Propolis ve kurkuminin meme kanseri tedavisinde rutin olarak kullanılan sisplatin ile birlikte kullanımının hücrelerdeki canlılık ve apoptoza etkisinin araştırıldığı bu çalışma sonucunda;

- 1) MCF-7 hücrelerinde 1.56-100 µg/ml doz aralıklarında uygulaması yapılan sisplatinin 48 saat sonunda hücre canlılığında kontrole göre en belirgin azalmanın 100 µg/ml dozunda olduğu ve bu dozda hücre canlılığının $18,17 \pm 6,93$ olduğu, en yüksek hücre canlılığının ise 1.56 µg/ml dozunda ve hücre canlılığının $89,99 \pm 8,46$ olduğu belirlendi.
- 2) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik sisplatin uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ dozuna en yakın doz 3.12 µg/ml olarak belirlendi.
- 3) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik sisplatin uygulaması sonucunda apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 100 µg/ml dozunda, en düşük apoptotik oranın ise 3.125 µg/ml dozunda olduğu saptandı.
- 4) MCF-7 hücrelerinde 0.08-5 µg/ml doz aralıklarında uygulaması yapılan kurkuminin 48 saat sonunda hücre canlılığında kontrole göre en belirgin azalmanın 5 µg/ml dozunda olduğu ve bu dozda hücre canlılığının $15,62 \pm 4,62$ olduğu, en yüksek hücre canlılığının ise 0.16 µg/ml dozunda ve hücre canlılığının $69,79 \pm 20,31$ olduğu belirlendi.
- 5) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik kurkumin uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ doza en yakın doz 0.31 µg/ml olarak belirlendi.
- 6) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik kurkumin uygulaması sonucunda apoptoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apoptotik hücre oranının 5 µg/ml dozunda, en düşük apoptotik oranın ise 0.156 µg/ml dozunda olduğu saptandı.
- 7) MCF-7 hücrelerinde 2.5-160 µg/ml doz aralıklarında uygulaması yapılan propolisin 48 saat sonunda hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak

sınırlı bir anlamlılıktan söz etmek mümkündür. Propolisin 80 µg/ml dozunda hücrelerde bariz bir şekilde azalma olduğu ve 160 µg/ml' ye çıktıkça hücrelerin yarıya yakının öldüğü gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada 48 saatlik uygulama sonunda kontrole göre en yüksek hücre canlılığının 40 µg/ml (108,99±23,55) en düşük hücre canlılığının ise 160 µg/ml dozunda (56,28±7,53) olduğu belirlendi.

- 8) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik Propolis uygulaması sonucu kontrole göre belirlenen ölüm oranları analiz edilerek %50 canlılık oranını gösteren LD₅₀ doza en yakın doz 160 µg/ml olarak belirlendi.
- 9) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik propolis uygulaması sonucunda apopitoz oranlarında kontrole göre artış olduğu belirlendi. Buna göre kontrole kıyasla en yüksek apopitotik hücre oranının 160 µg/ml dozunda, en düşük apopitotik oranın ise 5 µg/ml dozunda olduğu saptandı.
- 10) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik propolis uygulaması sonucunda apopitozis ve hücre canlılık verileri arasında uyum bulunamamıştır. Bu uyumsuzluğun çalışma kaynaklı ya da kullanılan kite bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Sınırlı bütçe nedeni ile tekrar edemediğimiz çalışmanın bu kısmının yayınlanmadan önce tekrar edilmesi gerekmektedir.
- 11) MCF-7 hücrelerinde; propolis (160 µg/ml), kurkumin (0.31 µg/ml) ve sisplatin (3.12 µg/ml) LD₅₀ dozlarına en yakın dozların birlikte uygulamasından 48 saat sonra % hücre canlılıkları kontrole göre en düşük sisplatin+kurkumin+propolis dozlarının üçlü kombininde (61,37±2,00), en yüksek propolis+kurkumin dozlarının ikili kombininde (80,39±5,20) olduğu tespit edildi.
- 12) MCF-7 hücre hattında 48 saatlik propolis, kurkumin ve sisplatin'in LD₅₀ dozlarına en yakın konsantrasyonlarının uygulanması sonucunda kontrole göre en yüksek apopitotik hücre oranının sisplatin+propolis, en düşük apopitotik oranın ise sisplatin+kurkumin birlikteliğinde olduğu saptandı. Meme kanseri tedavisinde sisplatinle birlikte propolis ve kurkuminin kombine verilmesi tedavi etkinliğini arttırabileceği öngörülse de, terapötik öneminin ortaya çıkarılması için daha kapsamlı invitro, invivo ve klinik çalışma yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. 2003. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 23(1A):363-98

Aggarwal BB, Surh YJ, Shishodia S. 2007. The molecular targets and therapeutic uses of curcumin in health and disease. In: Back N, Cohen IR, Kritchevsky D, Lajtha A, Paoletti R, eds. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 1sted. New York: Springer Science+ Business Media, LLC; 2007. p.1-480.

Aggarwal BB. 2003. Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol* 3(9):745–56.

Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. 1994. *Molecular Biology of The Cell*. New York: Garland Publishing. 1076.

Algier LA, Hanoglu Z, Ozden G, Kara F. 2005. The use of complementary and alternative (non-conventional) medicine in cancer patients in Turkey. *Eur J Oncol Nurs* 9:138-46.

Alkofahi, A.S. et al. 1990. Cytotoxicity, Mutagenicity and Antimicrobial Activity of Forty Jordanian Medicinal Plants. *International Journal of Crude Drug Research*, Volume 28, Issue2, Pages 139 -144.

American Cancer Society, 2013. *Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014*, American Cancer Society Inc. 2013, Atlanta, Georgia, USA, 1-37.

American Cancer Society, 2015. *Breast cancer detailed guide*, American Cancer Society Inc. 2014, Atlanta, Georgia, USA.

Anand P, Kunnumakara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, et al. 2008. Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Res* 25: 2097-116.

Anonim 2003. Analysis of Secondary Metabolites in Plant and Cell Culture Tissue of *Hypericum perforatum* L. and *Rhodiola rosea* L. <http://herkules.oulu.fi/isbn9514271610/isbn9514271610.pdf>(Erişim tarihi: 04/03/2018).

Anonim 2009a Plant Secondary Metabolites. <http://www.novafeel.com/nutrition/plant-secondarymetabolites.htm> (Erişim tarihi: 08/03/2018).

Anonim 2009b Plant Secondary Metabolism. <http://dreampharm.com/ginger/psm.asp>(Erişim tarihi: 08/03/2018).

Anonim 2017b Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanserle Savaş Daire Başkanlığı. Kanser İstatistikleri 2017 Date: 06.07.2017. Available: http://kanser.gov.tr/Dosya/ca_istatistik/2014-RAPOR._uzun.pdf

Anonim 2018 http://ukdk.org/pdf/mevzuat/Ulusal_Meme_tarama_standartlari.pdf adresinden 11.05.2018 tarihinde erişilmiştir

Anonim2017a Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Kanserle Savaş Daire Başkanlığı. Kanser Nedir?Date: 06.05.2018. Available: <http://kanser.gov.tr/kanser/kanser-nedir/4-kanser-nedir.html>

Apoptosis: the molecular basis of cell death, Vol. 3. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 5-29, 1991.

Aydınтуđu S. 2004. Meme Kanserinde Erken tanı. *Sted*, 13/6, 226-228.

Bakanlığı, T.C.S., Türkiye Kadın Sağlığı Araştırması. 2014: Ocak

- Balandrin, M.F., Klocke, J.A., Wurtele, E.S., and Bollinger, W.H., 1985. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*, 228: 1154–1160.
- Bánfi B, Malgrange B, Knisz J, et al. 2004. NOX3, a superoxide-generating NADPH oxidase of the inner ear. *J Biol Chem*. 279(44): 46065-72.
- Barisic K, Petrik J, Rumora L. 2003. Biochemistry of apoptotic cell death. *Acta Pharm.*, 53: 151-164.
- Becit M, Aydın S, Başaran N. 2017. Kurkuminin Terapötik ve ToksikEtkilerinin Değerlendirilmesi Türkiye Klinikleri J Pharm Sci 6(2):126-42.
- Bedi MC, Shenefelt PD. 2002. Herbal therapy in dermatology. *Arch Dermatol* 2002;138:232-42
- Behnia M, Robertson KA, Martin WJ. 2000. Role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease. Official Publication of The American College of Chest Physicians (CHEST) 117:1771-7.
- Bogdanov, S. 2012. Propolis: Composition, Health, Medicine: A Review. *Bee Product Science*, www.bee-hexagon.net
- Bokemeyer C, Berger CC, Hartmann JT, et al. 1998. Analysis of risk factors for cisplatin-induced ototoxicity in patients with testicular cancer. *Br J Cancer*.77(8): 1355-62.
- Boulikas T, Vougiouka M. 2003. Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. (Review). *Oncol Rep*. 2003;10(6):1663-82.
- Budihardjo I, Oliver HLM. 1999. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 15:269-90.
- Burak Mustafa Taş, Gökçe Şimşek. 2017. Sisplatin Ototoksitesisi Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 19(1): 30-36 .

- Burkhardt MA, Nagai-Jacobson MG. 2001. Nurturing and caring for self. *Nurs Clin North Am.* 36:23-32.
- Büyükgebiz O, Caferler JS. 2001. Apoptoz. *Sendrom.* 13:102-7.
- Bylinsky G.1995. Cell suicide: the birth of a mega- market.*Fortune.* 131:75-6.
- Carey, L.A., Perou, C.M., Livasy, C.A., Dressler, L.G., Cowan, D., Conway, K., Karaca, G., Troester, M.A., Tse, C.K., Edmiston, S., Deming, S.L., Geradts, J., Cheang, M.C.U., Nielsen, T.O., Moorman, P.G., Earp, H.S. and Millikan, R.C., 2006. Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study, *The Journal of the American Medical Association*, 295 (21), 2492-2502.
- Chen J, Wang FL, Chen WD. 2014. Modulation of apoptosis-related cell signalling pathways by curcumin as a strategy to inhibit tumor progression. *Mol Biol Rep* ;41(7):4583-94.
- Committee, A.C.o.R.B.-R. and A.C.o. Radiology, Breast imaging reporting and data system. 1998. American College of Radiology.
- Costa, A.R., et al. 2016. Cancer screening in Portugal: sex differences in prevalence, awareness of organized programmes and perception of benefits and adverse effects. *Health Expect.*
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564–582.
- Czene K, Lichtenstein P, Hemminki K. 2002. Environmental and heritable causes of cancer among 9.6 million individuals in the Swedish Family-Cancer Database. *Int J Cancer*; 99: 260-6.
- Darby, S.C., McGale, P., Taylor, C.W. and Peto, R., 2005. Long-term mortality from heart disease and lung cancer after radiotherapy for early breast cancer: prospective cohort study of about 300,000 women in US SEER cancer registries, *The Lancet Oncology*, 6 (8), 557-565.

- Dasari S, Tchounwou PB. 2014. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 740:364-78.
- Dehne N, Lautermann J, Petrat F, Rauen U, de Groot H. 2001. Cisplatin ototoxicity: involvement of iron and enhanced formation of superoxide anion radicals. *Toxicol Appl Pharmacol.* 174(1): 2734
- D'Orsi, C.J. and M.S. Newell, 2007. BI-RADS decoded: detailed guidance on potentially confusing issues. *Radiologic Clinics of North America*, 45(5): p. 751-763.
- Dugbartey GJ, Peppone LJ, de Graaf IA. 2016. An integrative view of cisplatin-induced renal and cardiac toxicities: Molecular mechanisms, current treatment challenges and potential protective measures. *Toxicology.* 371:58-66.
- Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E et al. 2005. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett.* 223(2):18190.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, 2000. Favourable and unfavourable effects on long-term survival of radiotherapy for early breast cancer: An overview of the randomised trials, *The Lancet*, 355 (9217), 1757-1770.
- FAYDAOĞLU E. , SÜRÜCÜOĞLU M., S. 2011. Geçmisten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52 – 67.
- Erdoğan B. B., 2003. Apoptozis mekanizmaları: tümör gelişiminde fas-fasl bağımlı apoptozis. *Akciğer Arşivi*, 4: 165-174.
- Ersöz T., 2012. Bitkisel ilaçlar ve gıda takviyeleri ile ilgili genel yaklaşım ve sorunlar. *MİSED Türk Eczacılar Birliği Yayını/ Meslek içi sürekli eğitim dergisi.* (27-28), 11-26.

Ferlay J., et al. 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*, 2015. 136(5): p. E359-86.

Fisher, B., Anderson, S., Bryant, J., Margolese, R.G., Deutsch, M., Fisher, E.R., Jeong, J.H. and Wolmark, N., 2002. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer, *The New England Journal of Medicine*, 347 (16), 1233-1241.

Florea AM, Busselberg D. 2011. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. 3(1):1351-71.

Frezza M, Hindo S, Chen D, Davenport A, Schmitt S, Tomco D, Dou QP. 2010. Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. *Curr Pharm Des.* 16(16):1813-1825.

Fulda S. 2010. Modulation of apoptosis by natural products for cancer therapy. *Planta Medica* 76: 1075-1079.

GLOBACAN 2012-Estimated Cancer Incidence, Mortality Andd Prevalence Worldwide in 2012. [cited 19.01.2018; Available from: <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>.)

Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. 2008. Curcumin as “curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol* 75(4):787809.

Gonzalez-Angulo, A.M., Morales-Vasquez, F. and Hortobagyi, G.N., 2007. Overview of resistance to systemic therapy in patients with breast cancer, *Breast Cancer Chemosensitivity*, In: Yu D. and Hung M.C. (ed.), Chapter 1, Springer, New York, USA, 1-22. ISBN: 978-0-387-74037-9

- Gözüm S, Tezel A, Koc M. 2003. Complementary alternative treatments used by patients with cancer in eastern Turkey. *Cancer Nurs* 26:230-6.
- Gratzke C, Bachmann A, Descazeaud A, Drake MJ, Madersbacher S, Mamoulakis C, Oelke M, Tikkinen KA, 2015. Gravas S.EAU Guidelines on the Assessment of Non-neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms including Benign Prostatic Obstruction. *Eur Urol*. Jun;67(6):1099– 109.
- Gray PW, Aggarwal BB, Benton CV, et al. 1984. Cloning and expression of cDNA for human lymphotoxin, a lymphokine with tumour necrosis activity. *Nature* 312(5996):721–4.
- Greenlee RT, Murray T, Bolden S. *Cancer Statistics, 2000*. C.A. *Cancer J Clin* 50: 7-33.
- Gupta SC, Patchva S, Aggarwal BB. 2013. Therapeutic roles of curcumin: lessons learned from clinical trials. *AAPS J*.15(1):195-218.
- Güran Ş. 2005. Kanserden Korunma. *Gülhane Týp Dergisi* , 47: 324-326.
- Han, K.H., 2001. *Molecular Biology of Secondary Growth*. *Journal of Plant Biotechnology*, 3: 45–57.).
- Hart S. 1994. The drama of cellular death. *Bioscience* 44:451-5.
- Hengartner MO. 2000. The biochemistry of apoptosis. *Nature*: 407: 770-6.
- Hetts SW. 1998. To die or not to die. *The Journal of The American Medical Association (JAMA)* 279:300- 7.
- Hewitt M, Greenfield S, Stovall E. 2006. From cancer patient to cancer survivor: lost in transition. *Committee on cancer survivorship: improving care and quality of life, institute of medicine and national research council*. Washington, DC: The National Academies Press.
- Hıkım A P S, Wang C, Leung A R, Swerdloff S. 1995. Involvement of apoptosis in the induction of germ cell degeneration in adult rats after

gonadotropin-releasing hormone antagonist treatment. *Endocrinology*, 136 (6): 2770-2775.

Hızel N. 1997. Apoptoz (Programlanmış Hücre Ölümü). *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi* 6:196-7.

Holland JC. 1982. Psychological aspects of cancer. In JF Holland and E Frei. *Cancer Medicine*. 2nd ed. Philadelphia. 1175-203.

Hortobagyi, G.N., 1994. Multidisciplinary Management of Advanced Primary and Metastatic Breast Cancer, *Cancer Supplement*, 74 (1), 416-423.

Hsu H, Xiong J, Goeddel DV. 1995. The TNF receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and Nf-kappa B activation. *Cell* 81:495–504.

Huang E, Teh BS, Strother DR, et al. 2002. Intensitymodulated radiation therapy for pediatric medulloblastoma: early report on the reduction of ototoxicity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 52(3): 599-605.

Humphrey, L.L., et al. 2002. Breast cancer screening: a summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*, 137(5 Part 1): p. 347-60.

Igney FH, Krammer PH. 2002. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* 2:277–88.

Israels LG, Israels ED. 1999. Apoptosis. *The Oncologist*. 4:332-9.

İlvan Ş. 2006. Meme Karsinomu Patolojisi. İ. Ü. Cerrahpaia Tıp Fakultesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Meme Kanseri Sempozyum Dizisi No: 54; 65 – 71.

İnternet: İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü. Geleneksel bitkisel tıbbi ürünler yönetmeliği.2010. Web:http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/sb/ecz/mevzuat/mevzuatPdf/geleneksel_bitkisel.pdf. Erişim tarihi 23 Mayıs 2014).

Jaruga E, Salvioli S, Dobrucki J, Chrul S, Bandorowicz-Pikula J, Sikora E et al. 1998. Apoptosis-like, reversible changes in plasma membrane asymmetry and permeability, and transient modifications in mitochondrial membrane potential induced by curcumin in rat thymocytes. *FEBS Lett* . 433(3):287-93.

Jin Z, El-Deiry WS. 2005. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* 4(2): 139-63.

Karabaş S. 2013. Kadın Öğretim Elemanlarının Meme Kanserine Bakış ve Kanser Korkusunun İncelenmesi

Karayurt O. MemeKanseri
http://www.saglik.gov.tr/extras/birimler/ksdb/meme_kanseri.

Kataoka T, Schroter M, Hahne M, Schneider P, Irmeler M, Thome M, Froelich CJ, Tschopp J. 1998. FLIP prevents apoptosis induced by death receptors but not by perforin/granzim B, chemotherapeutic drugs, and gamma irradiation. *J Immunol* 161:3936–42.

Kelland L. 2007. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer*. 7(8):573-84.

Kerr J F R, Winterford C M, Harmon B V. 1994. Apoptosis; its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer*, 73 (8).

Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. 1972. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-57.

Kerr JFR, Harmon BV. 1991. Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. In: Tomei LD, Cope FO, eds. *Apoptosis: the molecular basis of cell death*, Vol. 3. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 5-29.

Kimoto N, Hirose M, Kawabe M, Satoh T, Miyataka H, Shirai T., 1999. Post-initiation effects of a super critical extract of propolis in a rat two-stage

carcinogenesis model in female F344 rats. *Cancer Letters*. 147 (1-2): 221-227.

Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. 1995. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *Embo J* 14:5579–88.

Klener P Jr, Andera L, Klener P, Necas E, Zivny J. 2006. Cell death signalling pathways in the pathogenesis and therapy of haematologic malignancies: overview of apoptotic pathways. *Folia Biol (Praha)*. 52(1-2): 34-44.

Kopelman J, Budnick AS, Sessions RB, Kramer MB, Wong GY. 1988. Ototoxicity of high-dose cisplatin by bolus administration in patients with advanced cancer and normal hearing. *Laryngoscope*. 98(8): 858-64.

Kopke RD, Liu W, Gabaizadeh R, et al. 1997. Use of organotypic cultures of Corti's organ to study the protective effects of antioxidant molecules on cisplatin-induced damage of auditory hair cells. *Am J Otol*. 18(5): 559-71.

Köroğlu E. 2004. *Psikonozoloji, Tanımlayıcı klinik psikiyatri* Ankara 254-77.

Kuno T., Tsukamoto T., Hara A., Tanaka T., 2012. Cancer chemoprevention through the induction of apoptosis by natural compounds. *Journal of Biophysical Chemistry* 3(2): 156-173.

Kushi LH, Byers T, Doyle C, Bandera EV, McCullough M, McTiernan A, et al. American Cancer Society. 2006. Nutrition and Physical Activity Guidelines Advisory Committee. American Cancer Society guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: Reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin* 56: 254-81.

Kürkçü E. 2008. Deneysel Olarak Oluşturulmuş Meme Tümörlerinde Curcumin' in Arginaz Enzim Aktivitesi, Ornitin ve Nitrik Oksit Düzeylerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, T.Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne.

- Litiere, S., Werutsky, G., Fentiman, I.S., Rutgers, E., Christiaens, M.R., Limbergen, E.V., Baaijens, M.H.A., Bogaerts, J. and Bartelink, H., 2012. Breast conserving therapy versus mastectomy for stage I-II breast cancer: 20 year follow-up of the EORTC 10801 phase 3 randomised trial, *The Lancet Oncology*, 13 (4), 412-419.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. 2001. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology *cell*.104(4):487–501.
- Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, and Jacks T. 1993. p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. *Nature* 362:847-849.
- Mahmoud H., Vladimir I. 2002. Anti-Herpes Simplex Virus Effect of an Aqueous Extract of Propolis. In *IMAJ* ;4(Suppl), 923-927.
- McKeage MJ. 1995. Comparative adverse effect profiles of platinum drugs. *Drug Saf.* 13(4): 228-44.
- Mcphie D L, Coopersmith R, Peralta A H, Chen Y, Ivins K J, Manly S P, Kozlowski M R, Neve K A, Neve R L. 2003. DNA synthesis and neuronal apoptosis caused by familial alzheimer disease mutants of the amyloid precursor protein are mediated by the p21 activated kinase PAK3. *The Journal of Neuroscience*, 23 (17): 6914–6927.
- McVary FT, Roehrborn CG, Avins AL, Barry MJ, Bruskewitz RC, Donnell RF, Foster HE, Gonzalez CM, Kaplan SA, Penson DR, Ulchaker JC, Wei JT. 2014. American Urological Association: Management of Benign Prostatic Hyperplasia update.
- Meme anatomisi, [(www.cancerline.com/CancerLineHCP/9898_21482_0)].
- Monteiro LS, Bastos KX, Barbosa-Filho JM, Athayde-Filho PF, Diniz MFFM, Sobral MV. 2014. Medicinal plants and other living organisms with antitumor potential against lung cancer. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Article ID 604152, 15 pages.

- Morris, P. and Robbins, M.1997. Manipulating the Chemical Composition of Plants. <http://www.aber.ac.uk/en/media/ch2.pdf> (Erişim tarihi: 10/03/2018).
- Morrow M. 1999. Identification of the woman at risk for breast cancer: problem solved Recent Results Cancer Res. 151: 85-95.
- Nagata S. 1999. Fas ligand-induced apoptosis. Annual Review of Genetics. 33:29-55.
- Nanji AA, Hiller-Sturmhöfel S. 1997. Apoptosis and necrosis: two types of cell death in alcoholic liver disease. Alcohol Health and Research World. 21:325-30.
- Öktem S, Özhan M H, Özol D 2001. Apoptozisin önemi. Toraks Dergisi, 2(1):91-95.
- Özgen, M., Ertunç, F., Kınacı, G., Yıldız, M., Birsin, M., Ulukan, H., Emiroğlu, H., Koyuncu, N. ve Sancak, C., 2005. Tarım Teknolojilerinde Yeni Yaklaşımlar ve Uygulamalar: Bitki Biyoteknolojisi. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, Cilt 1, 315–346, Ankara.).
- Pari L, Tewas D, Eckel J. 2008. Role of curcumin in health and disease. Arch Physiol Biochem. 114(2):127-49.
- Parlar S, Kaydul N, Ovayolu N. 2008. Meme Kanseri ve Kendi Kendine Meme Muayenesinin Önemi. A.Ü, Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi, Cilt 8/1.
- Parrish AB, Freel CD, Kornbluth S., 2013. Cellular mechanisms controlling caspase activation and function. Cold Spring Harb Perspect Biol. 5(6)
- Paweletz N. 2001.Walther Flemming: pioneer of mitosis research. Nat Rev Mol Cell Biol 2:72–5.
- Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, et al. 1984. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. Nature. 312(5996):724–9.

- Pereira, M.B., et al., 2014. Recommended age groups and frequency of mammography screening: a systematic review. *Cien Saude Colet*, 19(4): p. 1135-40.
- Phillips KA, Glendon G, Knight JA. Putting the risk of breast cancer in perspective. *N Engl J Med*, 1999; 340: 141-144.
- Puentes-Prior D, Salvesen GS. 2004. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. *Biochem J*. 384: 201-232.
- Raff MC. 1998. Cell suicide for beginners, *Nature*. 396:119-122.
- Ravindran J, Prasad S, Aggarwal BB. 2009. Curcumin and cancer cells: how many ways can curry kill tumor cells selectively. 11(3):495-510.
- Reed FC, Pettigrew AC, King MO. 2000. Alternative and complementary therapies in nursing curricula. *J Nurs Educ*. 39:133-9.
- Romond, E.H., Perez, E.A., Bryant, J., Suman, V.J., Geyer, C.E. Jr., Davidson, N.E., Tan-Chiu, E., Martino, S., Paik, S., Kaufman, P.A., Swain, S.M., Pisansky, T.M., Fehrenbacher, L., Kutteh, L.A., Vogel, V.G., Visscher, D.W., Yothers, G., Jenkins, R.B., Brown, A.M., Dakhil, S.R., Mamounas, E.P., Lingle, W.L., Klein, P.M., Ingle, J.N. and Wolmark, Norman., 2005. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer, *The New England Journal of Medicine*, 353 (16), 1673-84.
- Rosenberg B, Camp LV, Krigas T. 1965. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*. 205:698-699.
- Sforcin, J.M. 2007. Propolis and the immune system: a review. In *Journal of Ethnopharmacology* 113 (1), pp. 1-14.
- Sharma OP. 1976. Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochemical Pharmacology*. 25: 1811-1812.

- Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. 2005 Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer*. 41(13):1955-68.
- Shishodia S, Sethi G, Aggarwal BB. 2005. Curcumin: getting back to the roots. *Ann N Y Acad Sci*. 1056:206-17
- Siegel, R. L., Miller K.D., Jemal, A., 2016. *Cancer Statistics 2016*, CA: a Cancer Journal for Clinicians. 66 (1), 7-30,
- Singh AK, Sidhu GS, Deepa T, Maheshwari RK. 1996. Curcumin inhibits the proliferation and cell cycle progression of human umbilical vein endothelial cell. *Cancer Lett*. 107(1):109-15.
- Srivastava R, Srimal RC. 1985. Modification of certain inflammation induced biochemical changes by curcumin. *Indian J Med Res*. 81:215-223.
- Stefani L, Galanti G, Klika R. 2017. Clinical implementation of exercise guidelines for cancer patients: Adaptation of ACSM's guidelines to the Italian model. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*. 2(1):4.
- Stewart B, Wild CP. *World cancer report 2014*.
- Suberu JO, Romero-Canelón I, Sullivan N, Lapkin AA, Barker GC. 2014. Comparative cytotoxicity of artemisinin and cisplatin and their interactions with chlorogenic acids in MCF7 breast cancer cells. *ChemMedChem*, Dec;9(12):2791-7
- Suliman A, Lam A, Datta R, Srivastava RK. 2001. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrial dependent and -independent pathways. *Oncogene* 20:2122–33.
- Elmore S. 2007. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*. 35(4):495-516
- T.C Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Kanser Dairesi Başkanlığı Kanser Tarama Kısa Rapor 2016 [cited 2018 25.03.2018]; Available from: <http://kanser.gov.tr/kanser/kanser-taramalari/1444-kanser-taramalar%C4%B1-k%C4%B1sa-rapor-2014.html>.

- Tan W, Lu J, Huang M, Li Y, Chen M, Wu G, Gong J, Zhong Z, Xu Z, Dang Y, Guo J, Chen X, Wang Y. 2011. Anticancer natural products isolated from Chinese medicinal herbs. *Chinese Medicine* 6: 27, 15 pages.
- Tannock IF, Hill RP. 1992. *The basic science of Oncology*. 2nd ed. New York, McGraw - Hill.
- Tavassoli FA, Devilee P. 2003. *World Health Organization Classification of Tumors, Tumors of the Breast and Female Genital Organs* 2nd ed. France. Lyon 2, 352-3.
- Theis, N. and Lerchau, M. 2003. The Evolution of Function in Plant Secondary Metabolites. *International Journal of Plant Sciences*, 164: 93–102.
- Thompson EB. 1998. Apoptosis. *Annual Review of Physiology*, 60:525-32 .
- Trapani JA, Smyth MJ. 2002. Functional significance of the perforin/granzyme cell death pathway. *Nat Rev Immunol*, 2:735–47,.
- Ulus, S., et al., 2007. Türkiye’de Toplum Tabanlı Meme Kanseri Taraması Programı: İlk Değerlendirme Raporu. *Türk Jinekolojik Onkoloji Dergisi*, Aralık, 10; 4, 85. 90.
- Van Dam, P.A., et al., 2015. The effect of EUSOMA certification on quality of breast cancer care. *Eur J Surg Oncol*, 41(10): p. 1423-9.
- Van Overwalle, 2007 Van Overwalle, G., 2007. *Medicinal and Aromatic Plants*, Chapter 9.
- Vanisree, M. ve Tsay, H.S., 2004. Plant Cell Cultures - An Alternative and Efficient Source for the Production of Biologically Important Secondary Metabolites. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 1: 29–48.).
- Vanisree, M., Lee, C.Y., Lo, S.F., Nalawade, S.M., Lin, C.Y. and Tsay, H.S., 2004. Studies on the production of some important secondary metabolites from

medicinal plants by plant tissue culture. *Botanical Bulletin Academia Sinica*, 45: 1–22.

Veronesi, U., Cascinelli, N., Mariani, L., Greco, M., Saccozzi, R., Luini, A., Aguilar, M. and Marubini, E., 2002. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer, *The New England Journal of Medicine*, 347 (16), 1227-1232.

Wajant H. 2002. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science* 296:1635–6, .

Welch, H.G. and W.C. Black, Overdiagnosis in cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2010. 102(9): p. 605-13.

Wolff, A.C., Hammond, M.E.H., Schwartz, J.N., et al. Hagerty, K.L., Allred, D.C., Cote, R.J., Dowsett, M., Fitzgibbons, P.L., Hanna, W.M., Langer, A., McShane, L.M., Paik, S., Pegram, M.D., Perez, E.A., Press, M.F., Rhodes, A., Sturgeon, C., Taube, S.E., Tubbs, R., Vance, GH., Vijver, M., Wheeler, T.M. and Hayes, D.F., 2007. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer, *Journal of Clinical Oncology*, 25 (1), 118-145.

Working, I., Group on the evaluation of cancer preventive strategies: breast cancer screening. 2002. Lyon7 IARC Press.

Wpcare, Fitoterapi Bitkiler, 07.03.2018 [(<http://www.wpcare.com/?action=fterapi>)]

Yavuz M. 2001. Hemsirelik Eğitiminde Alternatif ve Tamamlayıcı Terapiler. I. Uluslar arası & V. Ulusal Hemsirelik Eğitimi Kongre Kitabı. Nevşehir: Özlem Grafik Matbaacılık; p.50.

ÖZGEÇMİŞ

29.11.1991 tarihinde Tekirdağ'da doğdu. İlk ve ortaokulu Malkara Hüseyin Köse İlkokulu'nda, liseyi Malkara Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2009 yılında Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimine başladı. 2012 yılında Ege Üniversitesi Bilim-Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (EBİLTEM) zorunlu stajını yaptı. 2014 yılında lisans eğitimini tamamlayarak mezun oldu. 2016 yılında Namık Kemal Üniversite Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tümör Biyolojisi ve İmmünolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.