



**İNSAN MEME KANSERİ MCF-7 HÜCRELERİNDE  
BORUN APOPTOTİK ve ANTIANJİYOGENİK  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**ALİ OSMAN ALBAYRAK**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman:Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN**

**Uşak**

**Ocak, 2020**

**T.C.**  
**UŞAK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**İNSAN MEME KANSERİ MCF-7 HÜCRELERİNDE BORUN APOPTOTİK ve  
ANTIANGİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ali Osman ALBAYRAK**

**OCAK 2020**

**UŞAK**

**T.C.**  
**UŞAK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ**

**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**İNSAN MEME KANSERİ MCF-7 HÜCRELERİNDE BORUN APOPTOTİK ve  
ANTIANGİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ali Osman ALBAYRAK**

**UŞAK 2020**

**Ali Osman ALBAYRAK** tarafından hazırlanan **İnsan Meme Kanseri MCF-7 Hücrelerinde Borun Apoptotik ve Antianjiyogenik Etkilerinin Araştırılması** adlı bu tezin Yüksek Lisan tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN .....

Tez Danışmanı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Alper KARAGÖZ .....

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Uşak Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN .....

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Uşak Üniversitesi

Doç. Dr. Sinan İNCE .....

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyon Kocatepe Üniversitesi

Tarih: 28/01/2020

Bu tez ile U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Doç. Dr. Murat Kemal KARACAN .....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ali Osman ALBAYRAK

UŞAK 2020

# **İNSAN MEME KANSERİ MCF-7 HÜCRELERİNDE BORUN APOPTOTİK ve ANTIANGİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Ali Osman ALBAYRAK**

**UŞAK ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Ocak 2020**

**ÖZET**

Meme kanseri, kadınlarda en çok görülen kanser türü olup, dünyada kadın ölüm sebepleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Meme kanserine çözüm bulunması amacıyla, tedaviye yönelik farklı çalışmalar yapılmakta ve farklı ilaç ve maddelerin bu hastalık üzerindeki etkileri yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Bu çalışmada meme kanseri hücre dizisinde (MCF-7) borik asit kullanımının antiproliferatif, apoptotik, anjiyojenik ve antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Kemoterapötik ajanlar neoplastik hücrelere zarar verirken bazı normal hücreler de bundan etkilenmekte ve bu durum çeşitli yan etkilere neden olmaktadır. Borik asidin bazı kanser hücresi tiplerinin çoğalmasını kontrol ettiği gösterilmiştir. Borik asit peptidler, proteazlar, proteazomlar, arginaz, nitrik oksit sentaz ve transpeptidazların bir inhibitörüdür. Borik asidin güçlü bir antioksidan etki göstermesi, özellikle kanser tedavilerinde kullanılan ilaçların yan etkilerinin azaltılması ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesini azaltması açısından önem teşkil etmektedir.

Bu çalışmada borik asidin ortalama letel doz (LD50) değerlerini belirlemek için MCF-7 hücre dizisi üzerine borik asidin farklı konsantrasyonları uygulandı ve sitotoksik aktiviteleri 24, 48 ve 72. saatte hücre sayım (CCK-8) ELİSA kiti kullanılarak antiproliferatif etkisi belirlendi. Bulunan sonuçlarda en anlamlı değişiklikler 48.saatte görülmüştür. Bu sebeple diğer analizler 48 saatlik inkübasyon süresi üzerinden yapılmıştır. Biyokimyasal parametrelerin tayini için belirlenen konsantrasyonlar hücrelere uygulandıktan sonra hücre lizatları elde edildi. Elde edilen numunelerle anjiyogenik etkilerin belirlenmesi için vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEG-F) elisa kiti kullanıldı. Apoptotik etkileri belirlemek amacıyla da Poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) elisa kiti kullanıldı. Total antioksidan ve oksidan seviyeleri belirlemek için ise TAS ve TOS elisa kitleri kullanıldı.

Sonuç olarak bu çalışmada konsantrasyon ve zamana bağlı borik asidin MCF-7 meme kanseri hücre hattında proliferasyonun azaldığı gözlemlendi. Aynı zamanda elde ettiğimiz PARP sonuçlarına göre borik asit konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Borik asit konsantrasyonları ile Cis Platin grupları arasında anlamlı farklılık görülmemiştir. Her iki grubun da kontrol grubuna göre artış göstermesi, borik asidin hücreyi nekroza götürdüğünü düşündürmektedir. Borik asidin anjiyogenez ile ilişkisini açıklamak amacıyla yapılan VEG-F sonuçlarına bakıldığında ayrı ayrı hem kontrol grubu hem de Cis Platin ile anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Analizlerde borik asit gruplarında MCF-7 meme kanseri hücre hattında Cis Platinden daha etkili sonuçlar elde edilmiştir ve bu durum borik asidin antianjiyogenik bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Yapılan TAS-TOS analizleri sonucu antoksidan kapasite ve oksidan kapasite konsantrasyona bağlı artış gösterdi. Bu durum hücrenin oksidatif strese girdiğine ve buna karşılık antioksidan seviyelerini denge kurmak amacıyla arttırdığını düşündürmektedir. Bu açıdan bakıldığında, MCF-7 hücrelerinde yapılan biyokimyasal analizlerin doza bağlı değişimlerinin literatüre katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

**Anahtar Kelimeler:** *MCF-7, Borik Asit, PARP, VEGF*

**Sayfa Adedi** : 69

**Tez Yöneticisi** : Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN

**THE INVESTIGATION OF THE APOPTOTIC AND ANTIANGIOGENIC  
EFFECTS OF BORON IN HUMAN BREAST CANCER MCF-7 CELLS**

**(M.Sc. Thesis)**

**Ali Osman ALBAYRAK**

**UNIVERSITY OF USAK**

**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**January 2020**

**ABSTRACT**

Breast cancer is the most common type of cancer in women and ranks second in the world among the causes of female death. In order to find a solution to breast cancer, different studies conducted for treatment and the effects of different drugs and substances on this disease investigated intensively. In this study, it was aimed to investigate the antiproliferative, apoptotic, angiogenic and antioxidant effects of boric acid use in breast cancer cell line (MCF-7).

Chemotherapeutic agents damage neoplastic cells, while some normal cells are affected, causing various side effects. Boric acid has been shown to control the proliferation of certain types of cancer cells. Boric acid is an inhibitor of peptidases, proteases, proteasomes, arginase, nitric oxide synthase and transpeptidases. Boric acid has a strong antioxidant effect, especially in reducing the side effects of drugs used in cancer treatment and reactive oxygen species (ROS) is important to reduce the level.

In this study, different concentrations of boric acid were applied on the MCF-7 cell line to determine the mean lethal dose (LD50) values of the boric acid and the antiproliferative effect was determined using the cytotoxic activity of the cell count (CCK-8) ELISA kit at



24, 48 and 72 hours. The most significant changes in the results were seen at 48 hours. For this reason, other analyzes were made over a 48-hour incubation period. After the concentrations determined for the determination of biochemical parameters were applied to the cells, cell lysates were obtained. Vascular endothelial growth factor (VEG-F) elisa kit was used to determine angiogenic effects with the samples obtained. In order to determine apoptotic effects, Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) elisa kit was used. TAS and TOS elisa kits were used to determine total antioxidant and oxidant levels.

As a result, in this study, it was observed that the concentration and time-dependent boric acid decreased proliferation in the MCF-7 breast cancer cell line. At the same time, according to the PARP results we obtained, it was determined that the boric acid concentrations showed a significant difference compared to the control group. No significant difference was observed between boric acid concentrations and Cis Platin groups. The increase in both groups compared to the control group suggests that boric acid leads the cell to necrosis. When looking at the results of VEG-F performed to explain the relationship of boric acid with angiogenesis, significant differences were observed with both control group and Cis Platin. In the analysis, more effective results were obtained from Cis Platin in the MCF-7 breast cancer cell line in boric acid groups, suggesting that boric acid may have an antiangiogenic effect. As a result of TAS-TOS analysis, the antioxidant capacity and oxidant capacity increased due to concentration. This suggests that the cell undergoes oxidative stress and in turn increases antioxidant levels in order to balance. From this point of view, we believe that the dose-dependent changes of biochemical analyzes in MCF-7 cells will contribute to the literature.

**Keywords :** *MCF-7, Boric Acid, PARP, VEGF*

**Number of Page :** 69

**Supervisor :** Dr. Öğr. Üyesi Funda KARABAĞ ÇOBAN

## TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek lisans eğitimim boyunca bana katlanan ve benden desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Dr. Öğr. Üyesi Funda Karabağ Çoban'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarımnda bir an olsun bile pes etmeden yanımda olan özellikle canım arkadaşım Hande Aytuğ'a, diğer çalışma arkadaşlarıma ve sevgili Doç. Dr. Recep Liman hocama, doğduğum günden bugüne kadar arkamda olan babam Abdo Albayrak ve annem Leyla Albayrak'a, maddi manevi desteklerini esirgemeyen abim Mustafa Albayrak ve kardeşim Mehmet Fatih Albayrak'a, her anı benim için motivasyon olan değerli kardeşim Yasin Tümkaya ve Sefa Kopan'a, değerli arkadaşım Meryem Budak'a, iyi ve kötü günümde yanımda olan Ebru İmamoğlu'na; kısacası emeği geçen herkese yürekten teşekkür ederim.

Ali Osman ALBAYRAK

UŞAK 2020

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET .....	i
TEŞEKKÜR .....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
ÇİZELGELER LİSTESİ .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	x
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kanser .....	3
2.1.1. Kanser Nasıl Oluşur? .....	4
2.1.2. Kanser Oluşumuna Etki Eden Faktörler.....	5
2.2.Meme Kanseri.....	6
2.2.1. Meme Kanseri Evreleme .....	7
2.2.2. Meme Kanser Risk Faktörleri .....	9
2.3. MCF-7 Meme Kanseri Hücre Hattı .....	11
2.3.1. Tarihçe.....	12
2.3.2. Fonksiyon ve tanımlama .....	12
2.3.3. Hücre Kültürü.....	14
2.3.4. Moleküler Profil .....	14
2.3.5. Çoğalması.....	16
2.3.6. MCF-7 ve Anjiyogenez/ Lenfanjiyogenez.....	17
2.4. Borik Asit.....	19
2.4.1. Borik Asit ve Kanser Riski.....	19
2.4.2. Borik Asit Alımının Hormonlar ve Meme Kanseri Etkileri.....	20
2.4.3. Hayvanlarda ve İnsanlarda Borun Rolü .....	21
2.4.4. Bor ve Oksidatif Stres .....	22
2.4.5. Bor ve Kanser Tedavisi .....	23
2.5. PARP (Poly (ADP-ribose) polymerase) .....	23
2.5.1. Poli (ADP-Riboz) polimeraz (PARP)'ın apoptozdaki rolü.....	24
2.6. VEGF (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü).....	25
3.MATERYAL ve METOT .....	27
3.1. Materyal .....	27
3.1.1. Kullanılan Cihazlar .....	27
3.1.2 Kullanılan Sarf malzemeler.....	28

3.1.3 Hücre Materyali.....	29
3.2. Yöntem.....	29
3.2.1. Hücre Kültürü.....	29
3.2.2. MCF-7 Hücrelerinde CCK-8 Proliferasyon Analizi .....	29
3.2.3. PARP Analizi .....	30
3.2.4. VEGF Analizi.....	31
3.2.5. TAS-TOS Analizleri .....	31
3.2.6. İstatistiksel Analizler.....	32
4. BULGULAR .....	33
4.1. MCF-7 Hücrelerinde CCK-8 Proliferasyon Bulguları.....	33
4.2. PARP ve VEGF Analizi Bulguları .....	34
4.3. TAS ve TOS Analizi Bulguları.....	34
5. TARTIŞMA.....	36
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	52

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Meme Anatomisi .....	7
Şekil 2.2. MCF-7 Hücreleri Mikroskop Görüntüsü (x4) .....	11
Şekil 2.3. DNA onarımı ve PARP'ın aşırı aktivasyonu.....	25



## ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge3.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar.....	27
Çizelge3.2. Tez çalışmasında kullanılan sarf malzemeler.....	28
Çizelge 3.3. Çalışmada oluşturulan gruplar.....	30
Çizelge 4.1. Canlılık-Konsantrasyon grafiği.....	33
Çizelge 4.2. PARP ve VEGF sonuçları.....	34
Çizelge 4.3. TAS ve TOS sonuçları.....	35

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
Ppm	Milyonda bir birim
g	Gram
mM	Milimolar
mg	Miligram
L	Litre
Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
ng	Nanogram
mL	Mililitre
kg	Kilogram
B	Bor
P	Fosfat
$\mu$ L	Mikrolitre
$\mu$ M	Mikromolar

## Kısaltmalar

## Açıklama

VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
PARP	Poly (ADP-ribose) polymerase
BA	Borik Asit
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
CCK-8	Cholecystokinin-8
PBS	Fosfat tamponlu salin
TAS	Total antioksidan kapasite
TOS	Total oksidatif stres
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-
difeniltetrazolium bromid	
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
Cis	Sisplatin
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
TG	Trigliserit
OP	Organofosfat
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
GSH	Glutatyon
Hep	Hepatitis
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
LDL	Düşük yoğunluklu lipoproteinlerdir
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit



NADP	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
ADP	Adenozin difosfat
ATP	Adenozin trifosfat
3-AB	3-aminobenzamid
CDC	Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri
MA	Moleküler Ağırlık
DBD	DNA- bağlı domain
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü

## 1.GİRİŞ

Meme kanseri, kadınlarda büyük sağlık sorunlarına neden olan en yaygın hastalıktır. Ülkemizde% 24,1 oranında kadınlarda görülen tüm kanser vakaları arasında ilk sırada yer almaktadır [1]. İnsidans ve prognoz coğrafi bölgelere göre değişiklik gösterse de, meme kanseri insidansının her yıl% 1,5 arttığı bildirilmektedir [2]. Literatürde en sık görülen meme kanseri tipinin en iyi sağkalım olduğu, 5 yıllık sağkalım oranı% 75 olduğu bildirilmektedir [3-4].

Meme kanseri hücre çizgisi olan MCF-7 hücreleri ilk olarak 1970 yılında invaziv duktal karsinomlu 69 yaşındaki bir kadının plevral efüzyonundan izole edilmiştir [5]. Bu hücre dizisine Soule ve ark. tarafından MCF-7 ismi Michigian Kanser Vakfı -7'nin kısaltması olarak kullanılmıştır. Meme adenokarsinomundan türetilen yaygın olarak incelenen bir epitelyal kanser hücre dizisi olan MCF-7, farklılaştırılmış meme epitelinin özelliklerine sahiptir. İnsülin benzeri proliferasyon faktörü bağlayıcı proteinleri sentezler. Meme kanseri ve diğer birçok kanser oluşumundaki hücre döngüsü kontrol noktalarından biri olan siklin D'deki mutasyonlar da MCF-7 hücrelerinde bulunur. MCF-7 hücre hattında kaspaz 6, 7 ve 9 ve BCL-2 ekspresyonu oldukça etkilidir. Ek olarak, p53 ve p21 genlerinin ekspresyonu ve düzenlenmesi normaldir [6].

Bor (B) periyodik tablonun beşinci elementidir ve grup 3A'daki tek metalik olmayan elementtir. Metal ve ametal arasında bir karakteristik olan bor, doğada serbest bir element olarak mevcut değildir. Borik asit veya borat tuzları gibi oksijen ile kombinasyon halinde bulunur. Atom numarası 5 ve atom ağırlığı 10.81'dir. Bor doğada 10B (% 19.78) ve 11B (% 80.22) izotopların bir karışımı olarak bulunur. Endüstriyel ölçekte 250'den fazla çeşitte kullanılır. Bunlar esas olarak; cam, seramik, temizlik ve ağartma, alev geciktiriciler, tarım, metalurji, nükleer uygulamalar ve sağlık [7]. Bor (B); Hücre zarı fonksiyonu, mineral ve hormonal metabolizma ve enzim reaksiyonlarında rol oynayan önemli bir eser elementtir.

Bu nedenle bor; ayrıca osteoporoz, kalp hastalığı, inme, diyabet, yaşlanma ve özellikle üreme sistemindeki değişikliklerle de ilişkilidir [8].

Bor türevi olan borik asit, en çok çalışılan bor içeren kimyasallardan biridir. Borik asidin belirli kanser türlerinin proliferasyonunu kontrol ettiği gösterilmiştir. Yüksek dozda borik asidin (12,5-50 mM) hücre replikasyonunu yavaşlattığı ve hem melanom hücrelerinde hem de MDA231 meme kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediği gösterilmiştir [9-10]. Bu nedenle, kanser hücrelerinin borik asit tarafından inhibisyonu bir doğrudan enzimatik inhibisyon, apoptoz, reseptör bağlanması ve mRNA yerleştirilmesi gibi çeşitli hücre hedefleri içerir. Barranco ve Eckhert, prostat kanserine neden olan hücre hatlarında borik asidin anti-proliferatif etkilerini incelediler ve sonuç olarak yüksek dozlarda borik asidin apoptotik etkilere sahip olduğunu gözlemlediler [11]. Son zamanlarda, 1 mM borik asidin ZR-75-1 meme kanseri hücre hattını inhibe ettiği deneysel olarak gösterilmiştir [12]. Bu çalışmada, MCF-7 insan meme kanseri hücre dizisi üzerinde farklı konsantrasyonlarda borik asidin apoptotik, anjiyogenik, antiproliferatif ve antioksidan etkilerinin araştırması amaçlanmıştır.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanser

Kanser hücrelerin kontrolsüz şekilde hızla çoğaldığı ölümcül bir hastalıktır. Kanser terimi ilk defa M.Ö 400 lü yıllarda Hipokrat tarafından ‘carsinos’ ya da ‘carsinoma’ olarak isim verilmiştir [13]. Kanser, trilyonlarca hücreden oluşan insan vücudunda hemen hemen her organ ve dokudan başlayabilir. Normal bir insanda hücreler büyür ve vücudun ihtiyaçlarını karşılamak üzere yeni hücreler oluşturmak için bölünüp çoğalmaya devam ederler. Hücreler yaşlandıkça hasar görür ve sonrasında ölürler bunun sonucu olarak yeni hücreler yerlerini alır.

Ancak kanser geliştiğinde, bu düzenli süreç son bulur. Hücreler zamanla daha fazla anormal hale geldikçe, eski veya hasarlı hücreler ölmesi gereken yerde yaşamaya devam eder ve ihtiyaç duyulmamasına rağmen yeni hücrelerin oluşmasına zorlar. Bu hücreler durmadan bölünür ve tümör denilen büyümeler oluşturabilir.

Kanserli tümörler habistir ve yakındaki dokulara yayılabilir dokuları istila edebilirler. Bunun dışında, bu tümörler büyüdükçe, bazı kanser hücreleri ayrılabilir ve vücudun diğer noktalarına kan veya lenf sistemi yoluyla ulaşır ve orijinal tümörden uzakta yeni tümörler oluşturabilir. Kötü huylu tümörlerin aksine, iyi huylu tümörler çevre dokulara yayılmaz veya istila etmez.

### 2.1.1. Kanser Nasıl Oluşur?

Kansere, kalıtımın temel fiziksel birimleri olan genlerde yapılan bazı değişiklikler neden olur. Genler, kromozom adı verilen sıkıca paketlenmiş DNA'nın uzun şeritlerinde düzenlenir.

Kanser genetik bir hastalıktır - yani hücrelerin işleyiş şeklini, nasıl büyüdüklerini ve bölündüklerini kontrol eden genlerdeki değişikliklerden kaynaklanır.

Kansere neden olan genetik değişiklikler ebeveynlerimizden kalıtsal olabilir. Hücre bölünürken meydana gelen hataların bir sonucu olarak veya belirli çevresel faktörlere maruz kalmanın neden olduğu DNA'nın zarar görmesi nedeniyle bir insanın yaşamı boyunca da ortaya çıkabilir. Kansere sebep olan çevresel riskler arasında tütün dumanındaki kimyasallar gibi maddeler ve güneşten gelen ultraviyole ışınları gibi radyasyon yer alır.

Her insanın kanserinde genetik değişikliklerin benzersiz bir kombinasyonu vardır. Kanser büyümesi ilerledikçe ek değişiklikler meydana gelir. Aynı tümör içinde bile, farklı hücreler farklı genetik değişikliklere sahip olabilir.

Genel olarak, kanser hücreleri, DNA'daki bozukluklar gibi normal hücrelere göre daha genetik değişikliklere sahiptir. Bu değişikliklerin bazılarının kanserle ilişkisi olmayabilir; sebebi yerine kanserin sonucu olabilirler. Kanser oluşumuna katkıda bulunan genetik değişiklikler üç ana gen tipini ( proto-onkogenler , tümör baskılayıcı genler ve DNA tamir genleri) etkileme eğilimindedir.

Proto-onkogenler standart hücre büyümesi ve bölünmesinde rol oynarlar. Bununla birlikte, bu genler belirli şekillerde farklılaştırıldığında ya da standartlarından daha aktif olduklarında, hücrelerin büyümemeleri gerektiğinde büyümelerine ve hayatta kalmalarına izin vererek kansere neden olan genler (veya onkogenler) olabilirler.

Tümör baskılayıcı genler ayrıca hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol etmede görev alır. Tümör baskılayıcı genlerde belirli değişiklikler olan hücreler kontrolsüz şekilde bölünebilir.

DNA onarım genleri hasarlı DNA'nın sabitlenmesinde görev alır. Bu genlerde mutasyon bulunan hücreler diğer genlerde ek mutasyonlar geliştirme yetkinliğindedir. Bununla birlikte, bu mutasyonlar hücrenin kanserli hücreye dönüşmesine neden olabilir.

Bilim adamları kansere neden olan moleküler değişikliklerle ilgili daha fazla şey öğrendiklerinde, bazı mutasyonların yaygın olarak birçok kanser türünde ortaya çıktığını buldular. Bu nedenle, kanserler bazen, sadece vücutta geliştikleri yer ve kanser hücrelerinin mikroskop altında nasıl görüldüğü ile değil, kendilerini tahrik ettiği düşünülen genetik değişiklik tipleri ile de karakterize edilir.

### **2.1.2. Kanser Oluşumuna Etki Eden Faktörler**

Bir kişinin neden kanser geliştirdiğini, diğerinin neden gelişmediğini bilmek genellikle mümkün değildir. Ancak araştırmalar, bazı risk faktörlerinin bir kişinin kanser geliştirme şansını artırabileceğini göstermiştir. (Daha düşük kanser riskine bağlı faktörler de vardır. Bunlara bazen koruyucu risk faktörleri veya sadece koruyucu faktörler denir.)

Kanser risk faktörleri, bazı davranışların yanı sıra kimyasallara veya diğer maddelere maruz kalmayı içerir. Ayrıca insanların yaş ve aile öyküsü gibi kontrol edemedikleri şeyleri de içerir. Bazı kanserlerin aile öyküsü, olası bir kalıtsal kanser sendromunun bir işareti olabilir.


Çoğu kanser risk faktörü başlangıçta epidemiyoloji çalışmalarında tanımlanmıştır. Bu çalışmalarda, bilim insanları büyük insan gruplarına bakmakta ve kanser geliştirenleri olmayanlarla karşılaştırmaktadır. Bu çalışmalar, kanser geliştiren kişilerin, kanser geliştirmeyenlerden daha fazla veya daha az belirli şekillerde davranma veya belirli maddelere maruz kalma olasılığının yüksek olduğunu gösterebilir.

Bu tür çalışmalar, kendi başlarına, bir davranışın veya maddenin kansere neden olduğunu kanıtlamaz. Örneğin, bulgu tesadüflerin bir sonucu olabilir veya gerçek risk faktörü

şüpheli risk faktörü dışında bir şey olabilir. Ancak bu tür bulgular bazen medyada dikkat çeker ve bu, kanserin nasıl başladığı ve yayıldığı hakkında yanlış fikirlere yol açabilir.

Birçok çalışmada potansiyel bir risk faktörü ile artmış kanser riski arasında benzer bir ilişkiye işaret ettiğinde ve risk faktörünün gerçekten kansere nasıl neden olabileceğini açıklayabilecek olası bir mekanizma mevcut olduğunda, bilim adamları ikisi arasındaki ilişki konusunda daha emin olabilirler. .

Aşağıdaki liste kanser için en çok çalışılan bilinen veya şüphelenilen risk faktörlerini içermektedir. Bu risk faktörlerinden bazılarından kaçınılabilse de, yaşlanmak gibi bazı faktörler de kaçınılmazdır. Maruz kalmanızı önlenebilir risk faktörleriyle sınırlandırmak, belirli kanserler geliştirme riskinizi azaltabilir.

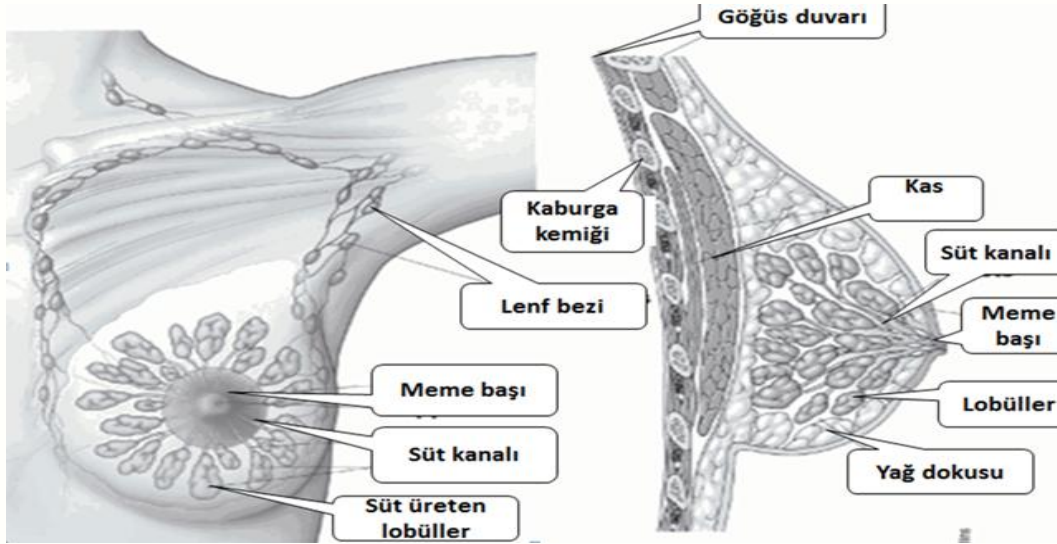
- 
- Yaş
  - Sigara
  - Alkol
  - Kansere Neden Olan Maddeler (Yiyecek ve içeceklerde bulunan kimyasallar)
  - Kronik iltihaplar
  - Diyet
  - Hormonlar
  - İmmunosupresyon
  - Bulaşıcı Ajanlar
  - Obezite
  - Radyasyon
  - Güneş ışığı

## **2.2.Meme Kanseri**

Meme kanseri, cilt kanserinden sonra kadınlarda ikinci en yaygın kanserdir. Meme kanseri, memenin dokularında habis (kanser) hücrelerinin olduğu bir hastalıktır. Meme lob ve kanallardan oluşur . Her memede lob denilen 15 ila 20 bölüm vardır. Her

lobun lobül adı verilen birçok küçük bölümü vardır . Lobüller, süt yapabilen düzinelerce küçük ampulle sona erer. Loblar, lobüller ve ampuller kanal adı verilen ince tüplerle bağlanır. Her memede ayrıca kan damarları ve lenf damarları vardır. Lenf damarları, lenf adı verilen neredeyse renksiz, sulu bir sıvı taşır. Lenf damarları lenf düğümleri arasında lenf taşır. Lenf düğümleri, vücutta bulunan küçük, fasulye şeklindeki yapılardır. Lenflerdeki filtreler, enfeksiyon ve hastalıklarla savaşmaya yardımcı olan beyaz kan hücrelerini depolarlar.

En sık göğüs kanseri olan duktal karsinom hücrelerin kanallarında başlar. İnflamatuar meme kanseri , memenin sıcak, kırmızı ve şiştiği nadir görülen bir meme kanseri türüdür. Meme anatomisi Şekil 2.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Meme Anatomisi

### 2.2.1. Meme Kanseri Evreleme

Meme kanseri teşhisi konduktan sonra, kanser hücrelerinin göğüste veya vücudun diğer bölgelerine yayılıp yayılmadığını anlamak için testler yapılır. Kanserin memenin içine mi yoksa vücudun diğer bölgelerine mi yayıldığını bulmak için kullanılan işleme evreleme denir.



Evreleme sürecinde toplanan bilgiler hastalığın evresini belirler. Tedaviyi planlamak için aşamayı bilmek önemlidir. Meme kanserini teşhis etmek için kullanılan bazı testlerin sonuçları da hastalığı evrelemek için kullanılır.

Evreleme sürecinde aşağıdaki testler ve prosedürler de kullanılabilir:

- Sentinel lenf nodu biyopsisi : Cerrahi sırasında sentinel lenf nodunun çıkarılması. Kanser primer tümörden yayılabileceği ilk lenf düğümüdür. Bir radyoaktif madde olan mavi boya ile tümör işaretlenir . Madde veya boya lenf kanallarından lenf düğümlerine akar. Maddeyi veya boyayı alan ilk lenf nodu çıkarılır. Mikroskop altında taranır . Kanser hücreleri bulunmazsa, daha fazla lenf nodunun çıkarılması gerekli olmayabilir. Bazen, bir sentinel lenf düğümü birden fazla düğüm grubunda bulunur.
- Göğüs röntgeni : Organların ve göğüs içi kemiklerin görüntülenmesidir.
- CT taraması (CAT taraması) : Vücut içindeki alanların farklı açılardan çekilmiş bir dizi ayrıntılı resmini yapan bir prosedürdür. Resimler bir röntgen cihazına bağlı bir bilgisayar tarafından yapılır. Bir boya damar içine enjekte edilebilir veya organların veya dokuların daha net görünmesine yardımcı olmak için yutulabilir. Bu prosedüre bilgisayarlı tomografi veya bilgisayarlı aksiyal tomografi de denir.
- Kemik taraması : Kemikte kanser hücreleri gibi hızla bölünen hücrelerin olup olmadığını kontrol etmek için bir prosedürdür. Bir damara çok az miktarda radyoaktif madde enjekte edilir ve kan dolaşımından geçer. Radyoaktif madde kanserli kemiklerde toplanır ve bir tarayıcı tarafından tespit edilir.
- PET taraması (Pozitron Emisyon Tomografi Taraması) : Vücuttaki malign tümör hücrelerini bulmak için bir prosedürdür. Bir damara az miktarda radyoaktif glikoz (şeker) enjekte edilir. PET tarayıcı vücudun etrafında döner ve vücutta glikozun kullanıldığı yeri gösterir. Malign tümör hücreleri resimde daha parlak görünürler çünkü normal hücrelerden daha aktiftir ve daha fazla glikoz alırlar.

3 tip meme kanseri evre grubu vardır:

- **Klinik Prognostik Evre** ilk olarak tüm hastalar için sağlık öyküsü , fizik muayene , görüntüleme testleri (yapıldıysa) ve biyopsilere dayalı bir evredir. Klinik

Prognostik Aşama TNM sistemi , tümör derecesi ve biyobelirteç durumu ( ER , PR , HER2 ) ile tanımlanır. Gelen klinik işaretler kanser evreleme , mamografi veya ultrason için lenf düğümleri kontrol etmek için kullanılır.

- **Patolojik Prognostik Aşama** daha sonra ilk tedavisi olarak cerrahi geçiren hastalar için kullanılır. Patolojik Prognostik Aşama, cerrahi sırasında çıkarılan meme dokusu ve lenf nodlarından elde edilen tüm klinik bilgilere, biyobelirteç durumuna ve laboratuvar test sonuçlarına dayanır .
- **Anatomik Evre** , TNM sistemi tarafından tarif edildiği gibi kanserin büyüklüğüne ve yayılmasına dayanır. Anatomik Aşama, biyobelirteç testinin yapılamadığı dünyanın bazı yerlerinde kullanılır. Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanılmaz.

### 2.2.2. Meme Kanser Risk Faktörleri

Çalışmalar, meme kanseri riskinin bir dizi faktörden kaynaklandığını göstermiştir. Riskleri etkileyen ana faktörler kadın olmak ve yaşlanmaktır. Meme kanserlerinin çoğu 50 yaş ve üstü kadınlarda bulunur. Bazı kadınlar, bildikleri başka risk faktörleri olmasa bile meme kanserine yakalanırlar. Başlıca risk faktörleri şunlardır :

- **Yaşlanmak:** Meme kanseri riski yaşla birlikte artar; Çoğu meme kanseri 50 yaşından sonra teşhis edilir.
- **Genetik mutasyonlar:** BRCA1 ve BRCA2 gibi belirli genlerde kalıtsal değişiklikler (mutasyonlar). Bu genetik değişiklikleri miras alan kadınlar meme ve yumurtalık kanseri riski altındadır.
- **Üreme geçmişi:** 12 yaşından önceki erken adet dönemleri ve 55 yaşından sonra menopoza başlama, kadınları daha uzun süre hormonlara maruz bırakır ve meme kanseri olma riskini artırır.
- **Yoğun göğüslere sahip olmak:** Yoğun göğüsler yağ dokusundan daha fazla bağ dokusuna sahiptir, bu da bazen bir mamogramda tümörleri görmeyi zorlaştırabilir. Yoğun göğüsleri olan kadınların meme kanseri olma olasılığı daha yüksektir.
- **Kişisel meme kanseri öyküsü veya bazı kanserli olmayan meme hastalıkları:** Meme kanseri olan kadınların ikinci kez meme kanseri olma olasılığı daha yüksektir. Böyle atipik hiperplazi veya lobüler karsinom gibi bazı kanser olmayan

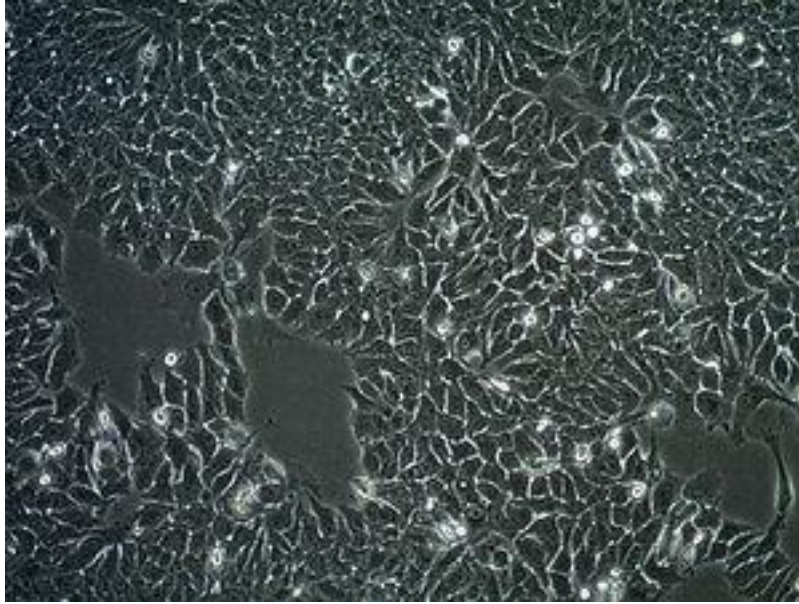
meme hastalıkları yerinde meme kanserine yakalanma riskinin daha yüksek ilişkilidir.

- **Ailede meme kanseri öyküsü:** Bir kadının anne, kız kardeşi veya kızı (birinci derece akraba) veya annesinin ya da babasının meme kanseri olan ailenin yanında birden fazla aile üyesi varsa, meme kanseri riski daha yüksektir. Meme kanserli birinci derece bir erkek akrabaya sahip olmak da kadının riskini artırır.
- **Radyasyon tedavisi kullanılarak önceki tedavi:** 30 yaşından önce göğsüne veya göğüslerine (Hodgkin lenfoma tedavisi gibi) radyasyon tedavisi gören kadınların, daha sonraki yaşamında meme kanseri olma riski daha yüksektir.
- **Fiziksel olarak aktif olmamak:** Fiziksel olarak aktif olmayan kadınların meme kanseri olma riski daha yüksektir.
- **Menopozdan sonra aşırı kilolu veya obez olmak:** Aşırı kilolu veya obez olan yaşlı kadınların meme kanseri olma riski normal kilodaki kadınlardan daha yüksektir.
- **Hormonlar:** Menopoz sırasında alınan bazı hormon replasman tedavisi formları (hem östrojen hem de progesteron içerenler) beş yıldan fazla alındığında meme kanseri riskini artırabilir. Bazı oral kontraseptiflerin (doğum kontrol hapları) meme kanseri riskini artırdığı bulunmuştur.
- **Üreme geçmişi:** 30 yaşından sonra ilk gebeliğe sahip olmak, emzirmemek ve hiçbir zaman tam dönemli bir hamilelik yapmamak meme kanseri riskini artırabilir.
- **Alkol içmek:** Çalışmalar, bir kadının meme kanseri riskinin, daha fazla alkol içtikçe arttığını göstermektedir [14].

### 2.3. MCF-7 Meme Kanseri Hücre Hattı

Meme kanseri, tüm kanser vakalarının% 23'ünü ve kanser ölümlerinin% 14'ünü oluşturan kadınlar arasında en sık tanı alan kanser ve kanser ölümünün önde gelen nedenidir. Bu nedenle, bu alandaki araştırmalar hem ekonomik hem de psikolojik yükün üstesinden gelmek için önemlidir [15]. Son yıllarda, meme kanserinin tek bir hastalığı değil, memenin epitel hücrelerinden kaynaklanan moleküler açıdan farklı bir tümörleri temsil ettiği ortaya çıkmıştır [16].

Hücre hatları, meme kanserinde moleküler tanı için anahtar bir element olarak gözükmemektedir, çünkü laboratuvar araştırmalarının birçok alanında ve özellikle kanser araştırmalarında invitro modellerde yaygın olarak kullanılabilir [17]. Meme kanserine gelince, MCF-7 hücreleri, östrojen reseptörü (ER) pozitif meme kanseri hücre deneyi araştırmalarında ve her bir alt klonun araştırmada en sık kullanılan hücre tipidir [18]. MCF-7 hücreleri mikroskop görüntüsü Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.2. MCF-7 Hücreleri Mikroskop Görüntüsü (x4)

### 2.3.1. Tarihçe

1973 yılında Dr. Soule ve Michigan Kanser Vakfı'ndaki meslektaşları tarafından, isimlerinin türetildiği, MCF-7 hücreleri, 69 yaşında bir kadının metastatik hastalığı olan plevral efüzyonundan izole edilmiştir [19]. Hastaya primer hücre kültürü başlamadan 7 yıl önce benign tümör için sağ göğsüne mastektomi ve 4 yıl sonra malign adenokarsinom için sol göğsüne arka arkaya radikal mastektomi uygulanmıştır [20]. Radyoterapi ve hormon tedavisi ile lokal nüksler 3 yıl boyunca kontrol edilmiştir [19]. Tamoksifen öncesi günlerde, hasta muhtemelen yüksek dozlarda sentetik östrojen dietilstilbestrol ile tedavi edilmiş ve hastalık, tümörün hormona duyarlı olduğunu kanıtladığından beklenenden üç kat daha uzun süre kontrol edilmiştir. Yaygın nodüler nükslerin meydana gelmesinden iki ay sonra, 1970 yılının Haziran ayında, laboratuvar çalışmaları için plevral efüzyondan örnekler alınmıştır [20].

Meme kanseri için önemli bir keşif, 1973'te MCF-7 hücrelerinde ER'nin tanımıydı [19]. Bundan başka, 1975'te, anti-östrojenlerin tamoksifeninin MCF-7 hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği, ancak inhibisyonun östrojen tarafından tersine çevrilebileceği gösterilmiştir. Anti-östrojenlerle ilgili ilginç bulgulara rağmen, 1970'lerde ve 1980'lerin başında yapılan laboratuvar araştırmasının odak noktası östrojenin tümör büyümesini doğrudan uyardığını kanıtlamaktı [20].

### 2.3.2. Fonksiyon ve tanımlama

MCF-7, yıllarca birçok grup tarafından çoğalan, yaygın olarak kullanılan bir meme kanseri hücre hattıdır [21]. Antikanser ilaçları ile ilgili olanlar da dahil olmak üzere, dünya çapında meme kanseri araştırmaları için uygun bir model hücre hattı olduğunu kanıtlamaktadır [22]. Zamanla, MCF-7 hasta bakımı için pratik bilgi ile diğer meme kanseri hücre hattından daha fazla veri üretmiştir [18]. ER-pozitif ve progesteron reseptörü (PR) -pozitif olup, lümen A moleküler alt tipine aittir. [16] MCF-7, normalde düşük metastatik potansiyele sahip olduğu düşünülen, zayıf agresif ve istilacı olmayan bir hücre hattıdır [22, 23].

İnsan meme MCF-7 hücre hattı, çoğu zaman tek bir varlık olarak muamele görmesine rağmen, çoğu, toplam popülasyonun sadece küçük oranlarını oluşturan çok sayıda bireysel

fenotipten oluşur. Bu fenotipler gen ekspresyon profilinde, reseptör ekspresyonunda ve sinyal yolunda farklılık gösterir. Bireysel fenotiplerin proliferasyon oranındaki farklılıklara rağmen, hattın ilerici bir şekilde kültürlenmesi sırasında, belki de bir tür sinyalleşme işbirliği ile, çoklu fenotiplerin bir dengesi bir şekilde korunur. Ebeveyn çizgisinde bulunan küçük alt çizgiler, uygun seçici koşullar altında genişletilebilir. *In vitro* zaman ölçeği süreci (6 ay veya daha fazla), meme kanseri hastalarında anti-östrojen tedavisine veya aromataz inhibitörlerine direnç geliştirilmesinde klinik olarak meydana gelen uzun süre ile tutarlıdır. Bununla birlikte, terapi ile ilgili kritik bir soru, ortaya çıkan alt çizgilerin değişmiş reseptörleri ve ilişkili sinyal yollarını ifade edip etmediğidir [21].

MCF-7 hücrelerinin geçmişinde oldukça erken dönemde literatürde klonal varyasyonlarla ilgili raporlar yapılmıştır. MCF-7 hücreleri, incelenen varyanta göre kromozom sayısında 60 ila 140 arasında değişen önemli değişikliklerle birlikte geniş aneuploidi sunar. Diğer sitogenetik farklılıklar, spesifik marker kromozomlarının varlığı veya yokluğu ile ilgilidir. Mevcut veriler, MCF-7 hücrelerinde yüksek düzeyde bir genetik kararsızlık olduğunu göstermiştir. Karyotipik farklılıklar, farklı kültür koşullarından dolayı seçici basıncıdaki değişiklikleri yansıtabilir. MCF-7 hücreleri, klonal değişkenlik üretebilen kök hücrelerin bir kısmını içerir. Bu, bu hücre hattının heterojenliği için bir açıklama ve meme tümörü heterojenitesi için bir model olarak önerilmiştir [24].

MCF-7 hücreleri, ER-pozitif meme kanseri hücre deneyleri araştırmalarında gibi alanlarda kullanılır, araştırmaların çoğu, bunları kullanan kazanılmış anti-östrojen ilaç direncine yönelik araştırmaların çoğuyla birlikte kullanmıştır. MCF-7 hücreleri, anti-hormon tedavisi direnç araştırmaları için çok uygundur, çünkü kolayca kültürlenirler ve böyle bir hedefli terapi ile tedavi edildiklerinde ER ifadesini korurlar. Edinilmiş anti-hormona dirençli meme kanseri hücrelerinin özelliklerini araştırmak için, çeşitli anti-hormon ortamlarına özgü MCF-7 hücrelerinin popülasyonları yaratılmıştır.

*In vitro*, MCF-7 modelleri nihayetinde klinik bakımı daha yakından yansıtan *in vivo* modellere adapte edildiklerinde klinik uygulamaya doğru bir adım daha gelişti. *In vivo* modeller, kanser hücreleri, anjiyogenez, hücre metabolizma ve solunum arasındaki etkileşimin önemini, hücre kültüründe uygun şekilde değerlendirilemeyen süreçleri değerlendirmek için yeni bir boyut yaratmaktadır [18].

### 2.3.3. Hücre Kültürü

MCF-7 insan meme kanser hücreleri T25 ve T75 flasklar içinde ekilebilir. Kullanılan besiyerinin temel içeriği RPMI 1640 olmakla birlikte %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içermektedir. % 5 CO ortamında 37 ° C'de inkübe edilmesi gerekir. Santrifüj ortalama 1500-2000 rpmde yapılır. Ortalama kültürlenme haftada 2 kez yapılmalı, hücreler haftada 1:3 ekim oranında pasajlanmalıdır [25]. Alternatif bir hücre kültür ortamı, antibiyotik / antimikotik ve% 10 FBS ile desteklenmiş DMEM olabilir [26].

### 2.3.4. Moleküler Profil

MCF-7 meme kanseri hücreleri östrojen (E2) duyarlı hücreleridir ve çoğalması için E2'ye bağlıdır [27]. Yüksek düzeyde *ERα* transkriptleri ifade eder, ancak düşük düzeyde *ERβ* ifade ederler [28]. Bazı yazarlar ER ifadesinin parental çizgide tamoksifene dirençli alt çizgilere kıyasla zayıf olduğunu öne sürmelerine rağmen , diğerleri MCF-7'nin önemli miktarlarda 17β-estradiol reseptörü içerdiğini göstermiştir . Öte yandan, PR ifadesi parental çizgide güçlüdür ancak tamoksifene dirençli alt çizgilerde zayıf veya hatta yoktur [21, 25]. MCF-7 hücreleri östrojen yokluğunda ER ifadesini artırır. Kısa süreli östrojen yoksunluğu, MCF-7 hücrelerinin uzun süreli (altı aydan fazla) östrojen yoksunluğuna kıyasla farklı tepkilere neden olur. Düşük proliferasyon oranı östrojen uzaklaştırılmasından yaklaşık bir ay sonra devam eder, bu dönemde MCF-7'nin henüz adaptif veya telafi edici büyüme mekanizmaları bulamadığını gösterir [18].

MCF-7 suşlarının E2 tedavisine bir cevap olarak, büyümedeki farklılıklar, ER ekspresyon seviyesindeki veya işlevselliğindeki farklılıklardan kaynaklanmaz. MCF-7 hücrelerinin E2 duyarlılığı, insülin benzeri büyüme faktörü tip I reseptörünü (IGF-IR) aktive eden bir otokrin faktörünün salgılanmasına bağlı gibi görünmektedir [30]. MCF-7 hücre hattında miRNA'ların düzenlenmesinde IGF-1 sinyalleşmesinin rolüne ilişkin kanıtlar da vardır [31].

Meme kanseri hücrelerinin büyümesi sadece ER ve PR ile değil aynı zamanda plazma zarı ile ilişkili büyüme faktörü reseptörleri tarafından da kontrol edilir. Bu büyük ailenin özellikle önemli iki üyesi, her ikisi de MCF-7 hücrelerinde bulunan epidermal büyüme faktörü (EGF) tarafından aktive edilen epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ve

insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (HER2) 'dir [21]. Bununla birlikte, MCF-7'nin orta EGFR eksprese eden hücre çizgileri olduğu düşünülmektedir [16].

MCF-7 alt çizgileri, ER, PR ve HER2'nin nispi ifadesinde geniş bir farklılık gösterir. Baskın fenotip oranı, büyüme koşulları tarafından korunabilir; ER-pozitif fenotipin baskınlığı, fetal bovin serumunda az miktarda östrojen bulunmasıyla sağlanabilir. Bununla birlikte, östrojen yokluğunda uzamış büyüme, EGFR, HER2 ve sinyal yollarının diğer uyarıcılarına dayanan varyantları seçecektir [21]. İlginçtir ki, ER-, PR- ve HER2- negatif (üçlü-negatif) alt çizgiler ER-pozitif MCF-7 hücre hattında da kökene sahip gibi görünmektedir [32]. Bu, üçlü negatif meme kanserlerini klinik uygulamalardan anlamak için yararlı bir model oluşturabilir. Bu nedenle, tek bir kanser hücre hattının varyantlarının üretilmesi, klinik kanserde çoklu fenotiplerin gelişimini özetleyebilir [21].

MCF-7 hücreleri, farklılaştırılmış meme epitelinin özelliklerini gösterir: E-cadherin,  $\beta$ -katenin ve sitokeratin 18 (CK18) gibi epitelyal markerler için pozitif, vimentin ve düz kas aktin (SMA) gibi mezenkimal markerler için negatiftir [33]. MCF-7 ebeveyn hücreleri ayrıca, hücreler arası birleşimleri oluşturan diğer proteinlerin yanı sıra, klaudinler ve zona okuldens proteini 1 (ZO-1) gibi doğal epitel tabakalarının diğer spesifik moleküler markörlerinin ifadesini de korurlar. Öte yandan, MCF-7 hücreleri CD44 bakımından eksiktir [34, 35].

MCF-7pl (ana MCF-7 hücreleri) ve MCF-7A3 (interlökin (IL) -1 $\beta$  uyarıcısına yüksek hassasiyet için seçilen hücreler, CXC kemokin reseptörü tip 4 (CXCR4) üniform ifadesi ve interlökin 1 reseptörünün stabilitesi, tip I (IL1RI)) uyarılmamış koşullar altında hücre yüzeyinde IL-1RI'nın benzer bazal ifadesine sahiptir. Bununla birlikte, 48 saat boyunca IL-1 $\beta$  ile uyarıldığında, MCF-7pl hücreleri, reseptörü kendi yüzeylerinden MCF-7A3 hücrelerine kıyasla gevşettir. Bu sonuçlar, IL-1'in reseptör ekspresyonunu yukarı doğru düzenleyebileceğini veya MCF-7A3 hücrelerinde daha hızlı geri dönüşümünü indükleyebileceğini göstermektedir [34].

MCF-7 hücreleri, herhangi bir büyüme hormonu salgılayan hormon reseptörü (GHRHR) eksprese etmez ve bu nedenle bu reseptörlerin ekspresyonunu stimüle etmenin etkilerini değerlendirmek için yararlı bir sistemi temsil eder [26].

İlginç bir şekilde, hücre büyümesi kontrol geni RAC3, hücre dışı sinyalle düzenlenmiş kinazları (ERK) aktive etmesine rağmen MCF-7 hücrelerinde minimal bir etkiye



sahiptir. Bu, sinyalleme yolunun, bu hücrelerdeki nükleer faktör--B (NF-κB) proteinlerinin DNA transkripsiyon kontrolünün aktif olmaması nedeniyle tam olarak etkili olamayacağı gerçeğiyle açıklanabilir [23].

### 2.3.5. Çoğalması

Normal göğüs dokusundan fibroblastlar, ancak normal göğüs dokusundan şartlandırılmış vasat olmayan ortamlar, iki hücre tipi arasında kompleks parakrin etkileşimleri olduğunu düşündüren MCF-7 hücrelerinin büyümesini önleyebilir.

Estradiol, MCF-7 meme kanseri hücrelerinin büyümesini teşvik etmek için önemli bir etkiye sahiptir. Bununla birlikte, MCF-7 hücreleri, tamoksifene maruz kaldıktan sonra önemli bir proliferasyona başlamadan önce en az beş gün boyunca tutulur. Bu blok, hücreler her iki ajana aynı anda maruz kaldığında estradiolün uyarıcı etkisini önleyecek kadar etkilidir [22].

Bazal hücre proliferasyonunun başlangıç seviyesindeki dramatik azalmaya rağmen, serum yokluğunda 4 günlük kültürden sonra hücre ölümüne dair hiçbir kanıt bulunmadığından, apoptozis serum yoksunluğu sırasında pek olası görünmemektedir [26].

Yumurta akında (EW) kültürlenmiş MCF-7 hücreleri, geçici bir büyüme etkisinden sonra asini ve meme kanalı benzeri yapılar geliştirir. EW'de kültürlenmiş MCF-7 hücrelerinde bir *de novo* sentezinin ve birlikte yüksek seviyelerde of-kazeinin serbest bırakılmasının ortaya çıkması dikkat çekicidir. Konfokal mikroskopi β-kazein lekelemesinin kanalın lümeninde lokalize olduğunu gösterirken, transmisyon elektron mikroskobu (TEM), salgılanmasının, hücrenin apikal kısmına salgılanan veziküllerin bulunduğu polarize MCF-7 hücrelerini gösteren görüntüler yoluyla doğru şekilde yönlendirildiğini ve lümenine doğru yöneldiğini göstermiştir [33].

48 saatlik stimülasyondan sonra, IGF-1, MCF-7 hücrel proliferasyonunda yaklaşık 1.7 misli bir artışa neden olurken, E2 sadece yaklaşık 1.3 misli bir artışa neden olur. Buna karşılık, IGF-1 ve E2'nin kombinasyonu, E2'nin IGF-1'in hücrel proliferasyon üzerindeki etkisini kuvvetlendirdiğini gösteren dört ila beş kat bir artışa neden olur [36].

MCF-7pl hücreleri, birbirleriyle yakın temas halinde tipik epitelyal poligonal şekle sahip kompakt koloniler çoğalır ve oluşturur. Kolonilerin sınırındaki az sayıda hücre, fibroblastik şekil gösterir ve koloni kütesinden uzaklaşır. Buna karşılık, MCF-7A3 hücreleri tarafından

oluşturulan koloniler kompakt değildir, komşu hücrelerle sıkı temas göstermezler ve çoğu, tek başına veya gruplar halinde ana koloniden uzaklaşır. MCF-7pl hücreleri, 48 saat boyunca IL-1 $\beta$  ile uyarıldığında, taşıyıcı bir fenotip için düşündürücü sitoplazmik çıkıntılar gösteren kolonilerin sınırından dağılmış daha fazla fibroblastoid hücre görülür. Bu yapısal değişiklikler, IL-1 $\beta$  ile uyarılan MCF-7A3 hücrelerinin büyük çoğunluğunda açıkça görülmektedir. Ek olarak, Bu kültürlerde, daha büyük kolonilere yakın olan çok sayıda küçük uydu kolonisi gözlenmektedir. Kalan kolonilerin birkaçında, hücreler birbirinden ayrılma sürecinde görülür. Sitokin yokluğunda, MCF-7A3 hücreleri, MCF-7pl hücreleri tarafından oluşturulanlara göre oluşan koloni sayısının 2 katından daha fazla bir artış gösterir. IL-1 $\beta$  ile 48 saat boyunca uyarıldıktan sonra, MCF-7A3 hücreleri, bu kültürlerde oluşan uydu kolonilerinin sayısının artması nedeniyle, ana hücelere kıyasla 3 kat daha fazla artış gösterir ve hücreler birbirinden ayrılma sürecinde görülür. Sitokin yokluğunda, MCF-7A3 hücreleri, MCF-7pl hücreleri tarafından oluşturulanlara göre oluşan koloni sayısının 2 katından daha fazla bir artış gösterir. IL-1 $\beta$  ile 48 saat boyunca uyarıldıktan sonra, MCF-7A3 hücreleri, bu kültürlerde oluşan uydu kolonilerinin sayısının artması nedeniyle, ana hücelere kıyasla 3 kat daha fazla artış gösterir ( hücreler birbirinden ayrılma sürecinde görülür). Sitokin yokluğunda, MCF-7A3 hücreleri, MCF-7pl hücreleri tarafından oluşturulanlara göre oluşan koloni sayısının 2 katından daha fazla bir artış gösterir. IL-1 $\beta$  ile 48 saat boyunca uyarıldıktan sonra, MCF-7A3 hücreleri, bu kültürlerde oluşan uydu kolonilerinin sayısının artması nedeniyle, ana hücelere kıyasla 3 kat daha fazla artış gösterir [34].

### **2.3.6. MCF-7 ve Anjiyogenez/ Lenfanjiyogenez**

MCF-7 insan meme kanseri hücre hattının, RT-PCR ile tespit edildiği gibi dört VEGF'in (A, B, C, D) her biri için farklı seviyelerde olmasına rağmen mRNA'yı eksprese ettiği bulundu . İmmün olarak saptanabilir ancak düşük seviyelerde VEGF-A ve VEGF-C ve çok düşük seviyelerde VEGF-D salgırlar [37].

Bazı yazarlar VEGFR2'nin MCF-7 hücrelerinde hormonların ne yokluğunda ne de varlığında tespit edilmediği sonucuna varırken, diğerleri VEGFR2'nin sadece tümör endotel hücrelerinde tespit edildiğini, ancak MCF'nin karsinom hücrelerinde tespit edilmediğine dikkat çekmektedir. [38-40].

MCF-7 tümörlerinin büyümesi, anjiyogenez ile sınırlıdır [41]. VEGF veya VEGFR1 ekspresyonundaki azalma, MCF-7 hücrelerinde önemli hücre ölümünü indüklerken, NRP1 veya VEGFR2 ekspresyonundaki düşüşün, bu hücrelerin hayatta kalması üzerinde önemli bir etkisi yoktur. VEGFR1 dahil olarak MCF-7 hücrelerinde ifade edilir [38]. MCF-7 hücrelerinin sadece salgılanan VEGFR1 (ler)i ifade ettiği ve hemen hemen hiçbir hücre zarına bağlı VEGFR1'i ifade etmediğini gösterir [40].

MCF-7 hücrelerinde VEGF indüksiyonuna ERa aktivasyonu aracılık eder ve bu nedenle tamoksifenin MCF-7 hücrelerinde VEGF mRNA ekspresyonunu azalttığı gözlemlendi [28]. Bu kısmen tamoksifenin ER-pozitif meme kanserleri üzerindeki antagonistik etkisini açıklamaktadır [42]. Her halükarda, MCF-7 hücreleri, en azından kısmen, bu hücre hattının tümörjenisite eksikliğine neden olabilecek zayıf bir anjiyojenik potansiyel ortaya koymaktadır [43].

MCF-7 hücreleri östrojen bağımlı katı tümörler üretir ve lokal ve uzak lenf düğümlerine metastazlar üretir [44]. MCF-7 memeli tümörlerinde VEGF-C aşırı ekspresyonu güçlü ve spesifik olarak tümörle ilişkili lenfatik damarların büyümesini indükler, ancak tümör anjiyogenezinde büyük etkileri yoktur. Normal yetişkin dokularındaki lenfatik endotelial hücrelerin aksine, MCF-7 tümörleri ile bağlantılı olan lenfatik endotelial hücreler aktif olarak çoğalmaktadır. Bu bilgilere dayanarak, periferik ve tümoral lenfatik damarların çoğunun, önceden var olan lenfatik damarların endotelial hücrelerinin çoğalmasıyla üretildiği tahmin edilmektedir [45].

MCF-7 hücrelerinin, VEGF-D, VEGFR2 ve VEGFR3'ü RT-PCR ile eksprese ettiği görülmektedir, ancak VEGF-D ve VEGFR2 proteinleri MCF-7 hücre lizatları üzerinde western blot analizi ile tespit edilememektedir. VEGF-D mRNA, 17 $\beta$ -estradiol içeren ortamda inkübe edilmiş MCF-7 hücrelerinde yukarı doğru düzenlenir. Heregulin beta-1, HER2 reseptöründen yeni bir sinyal yolu, p38 mitojenle aktive olan protein kinazlardan (MAPK) sonraki aktivasyonuna MCF-7 hücrelerinde *VEGF-C* mRNA ve VEGF-C proteininin yukarıya doğru düzenlenmesini sağlar. NF- $\kappa$ B kaskadı, DNA transkripsiyonu ile sonuçlanır [46-48].

VEGF-C'nin, zayıf invaziv insan MCF-7 meme kanseri hücrelerini, insan meme kanseri için çıplak bir fare modelinde bir metastatik hücre hattına çevirme kabiliyetine sahip olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, sonuçlar VEGF-C ekspresyonunun artmış tümör lenfanjiyogeneziyle ilişkisini de doğrular. VEGF-C'nin aşırı ekspresyonunun, in

vitro büyüme hızı açısından MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu veya östrojen yanıtını etkilemediği görülmektedir . Bununla birlikte, in vivo olarak tümör boyutunu ve tümör oluşum oranını arttırır [49].

## **2.4. Borik Asit**

Bor (B), Periyodik Tablodaki 13.Grupta metal olmayan bir elementtir. B'nin özellikleri karbon ve silisyuma çok yakındır. Bu eleman, değerlik orbitallerinden daha az bir değerlik elektronuna sahiptir. Küçük boyut ve yüksek iyonizasyon enerjileri nedeniyle, bor metalik bağlanma yerine kovalent bağlanma ile sonuçlanır [50]. B, Dünya'da sadece% 0.001'i temsil eden nadir bir elementtir. Dünya genelinde ticari borat yataklarının 10 milyon ton olduğu tahmin edilmektedir [51]. Yeryüzünde B, temel formda mevcut değildir. Boraks, borik asit, kolemanit, kernit, üleksit ve boratlar şeklinde bulunur.

Borik asit (BA) en çok çalışılan bor içeren kimyasallardan biridir. BA'nın bazı kanser hücre tiplerinin çoğalmasını kontrol ettiği gösterilmiştir [9, 10, 52, 53]. BA, peptidazlar, proteazlar, proteazomlar, arginaz, nitrik oksit sentaz ve transpeptidazların bir inhibitörüdür [12, 54].

### **2.4.1. Borik Asit ve Kanser Riski**

Düşük B'li bir diyetin bir dizi genel sağlık sorununa yol açtığı ve kanser riskini artırdığı bulunmuştur. B eksikliğinin en sık görülen semptomları arasında artrit, hafıza kaybı, osteoporoz, dejeneratif ve yumuşak kıkırdak hastalıkları, hormonal dengesizlik ve libidoda bir düşüş bulunmuştur [55]. B'nin günlük alımı, gıda seçiminin, bazı özel kişisel ürünlerin kullanımının ve su B içeriğinin bir fonksiyonu olarak değişir. Genel B alımı için bildirilen değerler şu şekilde değişir: Avrupa Birliği'nde 0.8-1.9 mg / gün, Amerika Birleşik Devletleri'nde 1.7-7 mg / gün, Kore'de ~ 0.93 mg / gün, Avustralya'da 2.16-2.28 mg / gün, Meksika'da 1.75-2.12 mg / gün ve Kenya'da 1.8-1.95 mg / gün [56]. Bu farklılıklar, yüksek enerjili gıdaların bolluğu ve lifler ve bitki proteinleri açısından zengin gıda ürünlerinde bölgesel farklılıklar ile ilişkilendirilebilir. İnsan vücudu için gerçek B gereklilikleri belirsizliğini koruyor. Bu nedenle, B'nin biyolojik fonksiyonları ve değişiminin düzenlenmesi hakkında daha fazla bilgi gereklidir [57]. 18 yaşından büyük yetişkinler için B Toleranslı Üst Alım Seviyesi (UL) günde ~ 20 mg B'dir [58].

#### 2.4.2. Borik Asit Alımının Hormonlar ve Meme Kanserine Etkileri

Bazı raporlar, insan deneklerde diyet bor takviyesi ile 17-beta-östradiol seviyelerinin arttığını göstermiştir [59, 60]. Sağlıklı erkeklerin 10 mg B / gün ile bor takviyesi, son klinik verilere dayanarak yapılan bir gözlemlerde plazma serbest testosteron konsantrasyonunda önemli bir artış görülmüştür [61]. Yapılan çalışmaya göre, kısa süreli bor tüketiminden sonra serbest testosteron seviyesi artmış ve östradiol seviyesi azalmıştır. Meme kanseri hastalarının, östrojenler lehine göreceli eşey steroid hormon dengesizliği olduğu görülmektedir [62]. Biyolojik olarak yüksek testosteron, östrojenlerin meme dokuları üzerindeki proliferatif etkilerine karşı koyar ve kanser gelişimini ve / veya tümör büyümesini inhibe ederek memeyi koruyucu bir rol oynar [63]. Bununla birlikte, klinik öncesi çalışmalar testosteronun memenin doğal, endojen bir koruyucusu olarak çalıştığını göstermiştir. Postmenopozal kadınlarda endojen eşey hormon düzeyleri ve meme kanseri riski arasındaki bağlantıya ilişkin prospektif çalışmalardan elde edilen veriler de çoklu ve karmaşık ilişkiler göstermiştir. Hormon seviyelerinin belirlenmesi için kanlarından örnekler alındığında ekzojen eşey hormonları almayan kadınların prospektif çalışması, meme kanseri riskinin incelenen tüm eşey hormonlarının artan konsantrasyonu ile: toplam estradiol, serbest östradiol, cinsiyet dışı hormon bağlayıcı globulin (SHBG) - bağlı östradiol, estron, estron sülfat ve androstenedion, dehidroepiandrosteron, dehidroepiandrosteron sülfat ve testosteron seviyelerinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir: Yüksek SHBG, meme kanseri riskinde bir azalma ile ilişkilendirilmiştir [64]. Menopoz öncesi östrojen düzeyleri ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiye ilişkin araştırmalar, adet döngüsü sırasındaki siklik östrojen varyasyonu nedeniyle karmaşıktır. Premenopozal kadınlar arasındaki meme kanseri riski dolaşımdaki testosteron ve androstenedion seviyeleri ile doğrudan ilişkilidir. Sonuç olarak, günde en az 10 mg B'lik günlük diyet B alımı östradiol seviyesini azaltır ve testosteron seviyesini artırır [61]. Bu düzenleme meme kanserine karşı gerçek bir hormona bağlı koruma sağlar.

### 2.4.3. Hayvanlarda ve İnsanlarda Borun Rolü

Son zamanlarda, borun hayvanlar ve insanlar sağlığı için muhtemelen gerekli olduğu düşünölmektedir. Bor, çeşitli reaksiyonların sentezinde ve metabolizmasında rol oynayan hidroksilasyon reaksiyonlarına katılır gibi görünmektedir [65]. Bor, artrit için etkili bir tedavi seçeneğidir ve kemik, eklem ve kırıkdağa etkili bir şekilde kalsiyum entegrasyonunu artırarak vakaların %95'inde görölen kemik gelişiminde belirgin iyileşmeye neden olur. Dahası, testosteron ve östrojeni içeren birkaç hormonu etkiler [66]. Kanseri tedavisi bor nötron yakalama ajanları ile sağlanabilir. Borik asit, in vitro olarak meme kanseri hücrelerinin üstesinden gelmek için çok yararlıdır [11]. Borun vücuttaki bazı kan pıhtılaşma faktörlerini etkileyebileceği düşünölmektedir. Bor, konjestif kalp yetmezliği durumlarından kaynaklanan problemleri belirgin bir şekilde hafifletebilir. Bor, lipid birikimini azaltmaya yardımcı olur ve kolesterolün çeşitli yollarla giderilmesine yardımcı olur, böylece kan pıhtıları ve ateroskleroz gibi durumların ortaya çıkması riskini en aza indirir ve vücudu kalp krizi ve felçlere karşı savunur [67]. Ancak bu sonucu doğrulamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir ki bu da kalp hastalığına karşı savaşta ana bir konfederasyona (iş birliğine) yol açacaktır. Kompleks yapı ve bağlanma özelliklerinden dolayı boratlar aldehitler dehidrojenaz, nitrik oksit sentaz, peptidaz, ksantin oksidaz ve proteazlar gibi enzimler üzerinde inhibitör etki göstermiştir [68]. Bor, testosteron, östrojen, glikoz ve insülinin metabolizmasını etkiler. Glikoproteinler, glikolipidler ve hidroksil grubu olan diğer moleküller borik asitle kompleks oluşturabilir ve membranın bütönlüğünü düzenleyebilir [69,70]. Boratlar ayrıca kanserde antiinflamatuvar ve antioksidan ajan, yara iyileşmesi, hastalık kontrolü, genotoksisiteyi azaltma ve mitokondriyal membran aktivitesini modüle etmeyi de ortaya koydu [71-73]. Buna ek olarak, borik asit, pestisitler tarafından bastırılan asetilkolinesterazı yenilemiş ve ayrıca vücudu CCL4 ve diğer ajanlar tarafından indüklenen oksidatif strese karşı da korumuştur [74-77]. Gerekli bor miktarları türe özgüdür ve aynı zamanda oldukça değişkendir. İnsanlar da dahil olmak üzere çoğu türde, gerekli miktarda bor miktarı hala belirlenmektedir.

#### 2.4.4. Bor ve Oksidatif Stres

Organofosfat (OP) bileşikleri, oksidatif strese ve organizmalarda antioksidan durumdaki değişikliklere neden olur. OP genellikle gıda tedariginde insektisit olarak kullanılır, bu nedenle hem insanlar hem de hayvanlar rutin olarak onlara maruz kalırlar [66]. OP bileşikleri, çok sayıda hücre zarı bileşenine zarar vererek, özellikle ROS üretiminde toksik etkiler üretmiştir [78]. Son çalışmalar, yeterli miktarda bor içeren hayvanın OP insektisitlerinden korunduğunu göstermiştir. Bor uygulaması, OP indüklenmiş oksidatif stres ve enzim aktivitesinin tersine çevrilmesiyle sonuçlanmıştır. Ayrıca, bor, antioksidan mekanizmayı geliştirdi ve farelerde farklı vücut organlarını onarmıştır [74]. Endotoksin ile indüklenen oksidatif stres de bor uygulaması ile tersine döndü. Endotoksin, serbest radikaller üreterek organları etkiler ve bor, proteinlerde fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olarak organları oksidasyondan koruyabilir [79]. Kemirgen modelinde elde edilen sonuçlar 40 mg / L borun dalakların antioksidan kapasitesini artırabileceği ve dalak dokusu yapısını arttırabileceğini göstermiştir [80]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, kronik alkol tüketimine maruz kalan boron takviyeli kişiler düşük düzeyde oksidatif stres göstermiştir [68].

Bor uygulamasının, oksidanları nötralize eden glutatyon rezervlerini artırarak oksidatif stresi azalttığı düşünülmektedir [81]. Ek olarak, bor uygulaması, GSH seviyelerini artırır, böylece malatyonun toksik etkilerini korur [74]. Neonatal nekrotizan enterokolit rat modelinde, bor takviyesi GSH rezervlerinin silinmesini önlemek için antioksidan seviyesini artırmıştır [82]. Borun ayrıca, hücre içi ROS ve  $Ca^{+2}$  iyon seviyelerini azaltarak, antioksidan kapasiteyi arttırdığı ve sonuçta apoptozu önlediği düşünülmektedir [68, 72]. Ayrıca hepatoselüler karsinomda hepatosit hasarı ve oksidatif stresin biyokimyasal aktivitesi de bor indüksiyonu ile tersine çevrilebilir [83]. İnsan kan kültürlerinde bazı boratların oksidatif stres ve ağır metallerin neden olduğu genotoksisite üzerindeki etkinliği değerlendirildi. Lenfosit DNA bozukluğunu kontrol etmek için mikronükleus (MN) deneyleri ve kardeş kromatid değişimi (SCE) yapıldı. RBC'deki oksidatif stres, oksidan / antioksidan ve enzim aktivitesindeki değişikliklerin değerlendirilmesiyle hesaplandı. SCE, MN, malondialdehit ve glutatyon frekansının ağır metal indüksiyonu ile arttığı bildirildi, ancak boratlar ağır metallerin bu genotoksik ve oksidatif etkilerini başarıyla en aza indirdi. [77, 84].

#### 2.4.5. Bor ve Kanser Tedavisi

Deneysel ve epidemiyolojik çalışmalar, borik asidin insan prostat kanseri hücreleri üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu göstermiştir [52, 53]. Borun bu antikanserojen etkileri, NAD ve kalsiyum kanalı üzerindeki etkisiyle ilişkili olabilir. NAD, kolesterol ve hücreler için yağ üretiminde gereklidir [85, 86]. Hücre sağkalımı,  $Ca^{+2}$  'nin hücrelerin içine ve dışına hareketine de bağlıdır. Çalışan hücre, NAD / NADP üretiminin kesintiye uğramasını etkiler. Borik asidin, konsantrasyona bağlı olarak kanser hücrelerinde NAD üretimini ve  $Ca^{+2}$  salımını değiştirdiği bulunmuştur. Kanser hücresinin proliferasyonunun boratlar tarafından %30-97 oranında azaldığı bildirilmiştir [53]. Ek olarak, bor, prostat kanserinin büyümesi için gerekli olan tümöründeki insülin büyüme faktörü-1'i önemli ölçüde azaltmıştır [87-89]. Bağışıklık sistemi zarar görmüş farelerin diyetine borik asit eklendiğinde, farelere nakledilen insan prostat kanseri tümörü düşüş eğilimi göstermiştir [89]. Çalışmalar ayrıca borik asit ve fenilboronik asidin aktin düzenlemesini değiştirdiğini ve böylece prostat kanseri hücrelerinde hücre göçünü azalttığını ortaya koymaktadır. Fenilboronik asidin, tümör hücresi göçünün daha etkili bir inhibitörü olduğu bildirilmiştir [90]. Ayrıca, diyetle alınan bor alımının kadınlarda akciğer kanseri ve meme kanseri riskini azalttığı da gözlenmiştir [91].

#### 2.5. PARP (Poly (ADP-ribose) polymerase)

Poli (ADP-Riboz) Polimeraz (PARP)lar, DNA tamirine ek olarak çoklu hücrel işlemleri yerine getiren enzim ailesindedir. PARP1 en iyi karakterize edilmiş olanıdır ve iki DNA hasarı ile aktive olan PARP'lardan birisidir. Poli (ADPRiboz) Polimeraz (PARP, MA: 116 kDa) çekirdekdeki en fazla bulunan proteinlerden birisidir. Hedef hücrel proteinlerdeki NAD<sup>+</sup> moleküllerinden ADP-riboz'un polimerizasyonunu doğrusal ya da dallanmış polimerlere tutunarak katalizlemektedir. Bu 116 kDa protein, üç ana domainden oluşmaktadır. Bunlar; 14 amino N-terminal DNA- bağlı domain (DBD), otomodifikasyon domain ve bir de karboksi C-terminal katalitik domainidir. PARP çoğu molekülde ve hücrel süreçlerde birçok rol üstlenmektedir, bunlar; DNA hasar belirlenmesi ve onarımı, kromatin modifikasyonları, transkripsiyon ve hücrel ölüm yollarıdır. Bu süreçler; genom

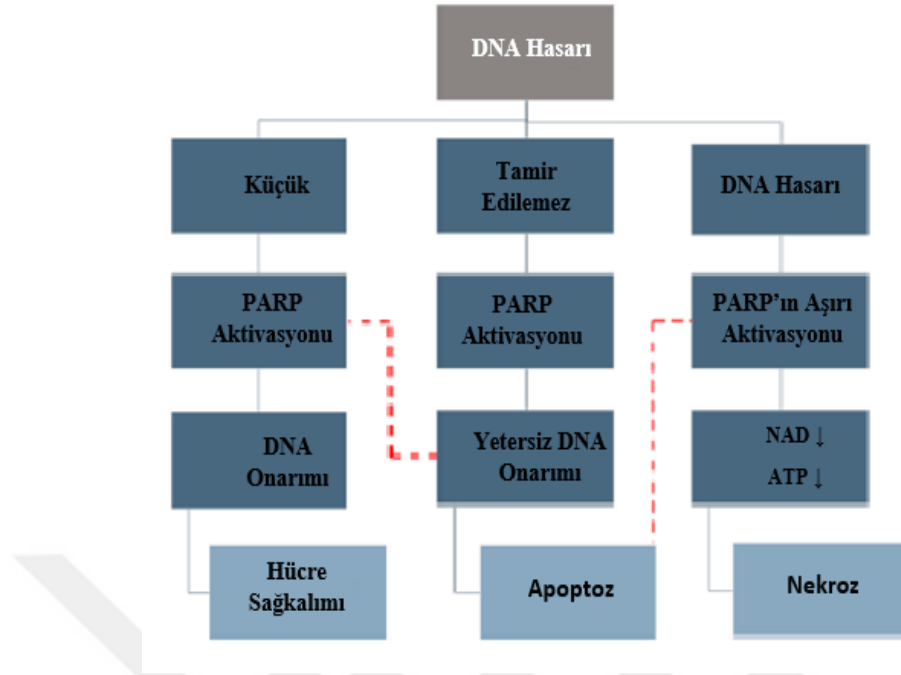


onarımı, karsinogenez, yaşlanma, iltihaplanma ve nöron fonksiyonları gibi fizyolojik ve patolojik sonuçlarda çok kritiktir [92]. PARP1 üç fonksiyonel gruptan oluşan hücrel bir proteindir. Amino terminal DNA bağlanma bölgesi ve iki adet ‘zinc finger bölgesi’ içermektedir ve bunlar PARP1’in DNA’nın tek ve çift zincir hasarlarına bağlanmada önemli rol üstlenmektedir. Merkezi oto modifikasyon bölgesi ADPRiboz’u çekerek, enzimler tarafından poli(ADP ribozil)’in kendini sindirmesini sağlar. C- terminal bölgesi, NAD<sup>+</sup>’nın alt birimindeki ADPRiboz’u protein alıcılara gönderir [93].

### **2.5.1. Poli (ADP-Riboz) polimeraz (PARP)’ın apoptozdaki rolü**

Kaspazın ilk belirlenmiş substratlarından olan PARP; özellikle, apoptoz ve nekrozda görev almaktadır ve biyologlar tarafından “ölüm substratı” olarak tanınmaktadır, çünkü kaspaz substratlarının ilk tespit edilenlerindedir. Apoptoz sürecinde, kaspaz 7 ve kaspaz 3, Asp214 ve Gly215 arasında PARP’ı yarmaktadır ve p85 ve p25 parçalarına ayırmaktadır. PARP yarıklanması DBD ile katalitik domaini birbirinden ayırır ve enzimleri inaktif hale getirir. Bu işlem apoptoz sırasında DNA parçalanmasına karşılık olarak PARP aktivasyonunu yok etmektedir ve nekrotik hücre ölümünde gerekli ATP tüketimi ve DNA onarım için gerekli boşuna çabalara engel olmaktadır. Bundan dolayı, PARP yarıklanması hücrenin, apoptotik yola girmesi için yardımcı olur ve apoptozun ayırt edici özelliği olarak kabul edilmektedir [92, 94].

DNA’daki hasar miktarına göre PARP görev yapmaktadır. Eğer DNA’daki hasar çok yüksek ise PARP, ATP/NAD tüketimiyle hücreyi nekroza götürür. Eğer DNA’daki hasar az miktarda ise diğer DNA onarım enzimleriyle birlikte PARP DNA onarımında görev alarak hücrenin yaşamasını sağlar, kaspaz ailesinden apoptozda çok kritik rol üstlenen ve PARP’ın yarıklanmasının ana sorumlusu olan kaspaz aktifleşmiş ise PARP yarıklanması gerçekleştirilerek, hücre apoptoza gitmektedir. Şekil 2.3.’de DNA onarımı ve aşırı PARP aktivasyonu verilmiştir [95, 96].



Şekil 2.3. DNA onarımı ve PARP'ın aşırı aktivasyonu.

DNA hasarının yoğunluğu PARP aktivasyonunu ve hücrel sağkalımı belirler. Küçük DNA hasarı, PARP aktivasyonunu tetikleyerek DNA onarımını ve hücrel sağkalımı kolaylaştırır. DNA hasarı'nın onarılamaması, p53'e bağlı apoptotik yolu aktive eder. Ana DNA hasarı, hücrel NAD + / ATP depolarını tüketen aşırı PARP aktivasyonunu tetikleyebilir. NAD + / ATP tükenmesi apoptozu bloke eder ve nekrozla sonuçlanır. PARP'ın inhibisyonu, hücrel enerji depolarını ve bunun sonucunda ortaya çıkan apoptozu onarmayı önler ve korur.

## 2.6. VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü)

“VEGF” 1983'te Senger ve arkadaşları tarafından, 34-42 kDa protein, vasküler permeabilite faktörü (VPF) olarak tanımlanmış ancak ilk olarak 1989 yılında Farrara ve arkadaşları ile Connolly ve arkadaşları tarafından hipofiz hücrelerinden bir endotelial hücre mitojeni olarak VEGF izole edilmiştir [97-99]. İlk olarak 1992'de Kim ve arkadaşları hayvan modelinde xenograftında VEGF monokloral antikorun tümör oluşumunu yavaşlattığını göstermiştir [100].

VEGF endotelial hücreler için, *in vivo* ve *in vitro*, sağkalım faktörüdür [101, 102]. VEGF ailesi, anjiogenik ve hücre sağkalım özellikleri nedeniyle önemlidir [103]. Neoplastik hücreler VEGF sekrete eder, yeni damar oluşumu ile oksijen ve besin maddeleri sağlar ve aynı zamanda metastazı kolaylaştırır. VEGF, tümör hücrelerini hipoksi, kemoterapi, radyoterapi gibi stres durumlarından korur.

Anjiogenezis; tümör büyümesi için önemlidir. VEGF'i içeren çeşitli anjiogenik peptid ve proteinlerce kontrol edilir. VEGF; tümör hücreleri tarafından üretilebilen bir glikoproteindir ve tümörlerin içindeki endotelial hücrelerin proliferasyonu üzerine direkt bir etkiye sahiptir. Tümör VEGF ekspresyonu artışı kanserlerde kötü prognozla korelidir [104].



### 3.MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Tez çalışmasında kullanılan cihazlar Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Tez çalışmasında kullanılan cihazlar

Adı	Markası
Buzdolabı +4/-20 °C	Vestel
Buzdolabı -80 °C	Wisecryo
CO2'li Etüv	Heal Force Smart Cell
ELISA Pleyt Okuyucu	Thermo Scientific Multiskan FC
Hassas Terazi	Precisa
İnvert Mikroskop	Nikon Eclipse TS100
Mikropipet Seti	Isolab
Mikroskop (İnverted)	Nikon Eclipse TS100
Puar	Isolap
Santrifüj	Nüve NF800R
Steril Kabin	Biohazard Safety Cabinet
Vorteks	Wisemix VM-10

### 3.1.2 Kullanılan Sarf malzemeler

Tez çalışmasında kullanılan sarf malzemeler Çizelge 3.2.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2. Tez çalışmasında kullanılan sarf malzemeler

Sarf Malzemeler	Marka/Lot Numarası- Katalog Numarası
Borik Asit	Sigma/ B6768
CCK-8 Kit	ABP Biosciences/AB1714A2
Cis Platin	Sigma/ 232120
Etanol	Sigma
Fosfat Tamponlu Salin (PBS)	Gibco/2028282
Fetal Bovine Serum	Gibco/08A1374K
Human(PARP)ELISA Kit	Sun-Red/201904
Human(T-AOC)ELISA Kit	Sun-Red/201812
Human(TOS)ELISA Kit	Sun-Red/201812
Human(VEGF)ELISA Kit	Sun-Red/201812
Penicilin/Streptomisin	Gibco/15140122
Pipet Ucu 0,5-10 µl	İsolab
Pipet Ucu 20-100 µl	İsolab
Pipet Ucu 100-1000 µl	İsolab
RPMI Medium 1640 (L Glutaminli)	Gibco/1976779
Steril Cam Pipet 5ml	SPL/91005
Steril Cam Pipet 10ml	SPL/91010
Steril Cam Pipet 25ml	SPL/91025
Steril Falkon Tüp -Vida Kapaklı-15 ml	Lp Italiana Spa/L111548
Steril Falkon Tüp -Vida Kapaklı-50 ml	Lp Italiana Spa/L116048
Steril Plate 96'lık	SPL/39096
Steril Plate 24'lük	SPL/39024
Steril Flask T25	SPL/70125
Steril Flask T75	SPL/70175
Tripsin-EDTA	Capricorn/CP18-2312

### **3.1.3 Hücre Materyali**

Araştırmalarımızda kullanılan insan meme kanseri MCF-7 hücre hattı Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarından Prof. Dr. Mehmet İbrahim Tuğlu'dan temin edilmiştir.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Hücre Kültürü**

Hücreler steril T25'lik ve T75'lik flaslara ekilerek %10 FCS, %10 RPMI 1640, %1 penisilin/streptomisin solüsyonundan oluşan besiyeri ortamında, 37 C'de %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe kültüre edilmiştir. Yeterli sayıya ulaşan hücreler, 96'lık plakalara her bir kuyucukta  $1 \times 10^5$  hücre olacak şekilde besiyeri ortamında ekilmiştir ve deneylere hazır hale getirilmiştir.

### **3.2.2. MCF-7 Hücrelerinde CCK-8 Proliferasyon Analizi**

Hücre proliferasyon analizi için pasajladığımız MCF-7 hücrelerini inkübatörden çıkardktan sonra 96 kuyucuklu plate'e %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren RPMI ortalama  $5 \times 10^5$  hücre/ml olacak şekilde 90 µl olarak ekildi ve %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C'lik inkübatörde inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon sonrasında kuyucuklar gruplandırılarak 10'ar µl borik asit eklendi.

Çizelge 3.3. Çalışmada oluşturulan gruplar

GRUPLAR	UYGULAMALAR
GRUP-1	% 10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin RPMI (medium)
GRUP-2	Cis Platin
GRUP-3	100 mM Borik Asit
GRUP-4	75 mM Borik Asit
GRUP-5	40 mM Borik Asit
GRUP-6	20 mM Borik Asit
GRUP-7	10 mM Borik Asit
GRUP-8	5 mM Borik Asit

Proliferasyon deneyi için kuyucuklar şekildeki gibi gruplandırıldı ve oluşturulan gruplar üçer tekrar yapılarak 48 saat inkübasyona bırakıldı. 48 saat tamamlandıktan sonra ticari olarak elde edilen CCK-8 solüsyonundan 10 µl eklendi ve 2 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda plate hafifçe çalkalanarak plate readera yerleştirildi ve 450 nm dalga boyunda ölçüm gerçekleştirildi.(Kit Lot No : AB1714A2)

### 3.2.3. PARP Analizi

Hücreler flask tabanını %85-90 oranında kapladıktan sonra deney için 24 kuyucukluplate'e her kuyucuğa  $1 \times 10^5$  hücre gelecek şekilde ekim yapıldı. 24 saat sonra ekilen hücreler üzerine 10,20,40mM borik asit dozları muamele edildi ve 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda medium uzaklaştırıldı ve hücreler soğuk PBS ile yıkandı. Yıkama sonrası PBS uzaklaştırıldı. Hücreler üzerine tripsin eklenerek hücrelerin kalkması sağlandı. Tripsinin etkisini ortadan kaldırmak için besiyeri bulunan ependorfa aktarılan hücreler

15°C, 1600 rpm'de 15 dksatrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Ependorf içerisine medium eklenerek hafifçe çalkalandı ve PARP analizi için hazır hale getirildi. Ticari olarak edinilen PARP kiti içerisindeki tek kullanımlık antikor yüklü plate'e ekildi ve kit prosedürü uygulandı. (Kit Lot No : 201904)

#### **3.2.4. VEGF Analizi**

Hücreler flask tabanını %85-90 oranında kapladıktan sonra deney için 24 kuyucukluplate'e her kuyucuğa  $1 \times 10^5$  hücre gelecek şekilde ekim yapıldı. 24 saat sonra ekilen hücreler üzerine 10,20,40mM borik asit dozları muamele edildi ve 48 saat inkübasyona bırakıldı.İnkübasyon sonunda medium uzaklaştırıldı ve hücreler soğuk PBS ile yıkandı. Yıkama sonrası PBS uzaklaştırıldı. Hücreler üzerine tripsin eklenerek hücrelerin kalkması sağlandı. Tripsinin etkisini ortadan kaldırmak için besiyeri bulunan ependorfa aktarılan hücreler 15°C, 1600 rpm'de 15 dksatrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Ependorf içerisine medium eklenerek hafifçe çalkalandı ve VEGF analizi için hazır hale getirildi. Ticari olarak edinilen VEGF kiti içerisindeki tek kullanımlık antikor yüklü plate'e ekildi ve kit prosedürü uygulandı. (Kit Lot No : 201812)

#### **3.2.5. TAS-TOS Analizleri**

Hücreler flask tabanını %85-90 oranında kapladıktan sonra deney için 24 kuyucukluplate'e her kuyucuğa  $1 \times 10^5$  hücre gelecek şekilde ekim yapıldı. 24 saat sonra ekilen hücreler üzerine 10,20,40mM borik asit dozları muamele edildi ve 48 saat inkübasyona bırakıldı.İnkübasyon sonunda medium uzaklaştırıldı ve hücreler soğuk PBS ile yıkandı. Yıkama sonrası PBS uzaklaştırıldı. Hücreler üzerine tripsin eklenerek hücrelerin kalkması sağlandı. Tripsinin etkisini ortadan kaldırmak için besiyeri bulunan ependorfa aktarılan hücreler 15°C, 1600 rpm'de 15 dksatrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı. Ependorf içerisine medium eklenerek hafifçe çalkalandı ve TAS-TOS analizi için hazır hale getirildi. Ticari olarak edinilen TAS-TOS kiti içerisindeki tek kullanımlık antikor yüklü plate'e ekildi ve kit prosedürleri uygulandı. (Kit Lot No : 201812)



### 3.2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda ELISA cihaz test sonuçları SPSS-20 istatistik programı kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar ortalama (SE) standart hata olarak verildi ( $SE = SD / n$ )

Grupların homojenliği test edildikten sonra, gruplar arasındaki farklılıkları bulmak için tek yönlü ANOVA testinde Duncan kullanıldı. Farklılıklar  $P < 0.05$ 'te istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

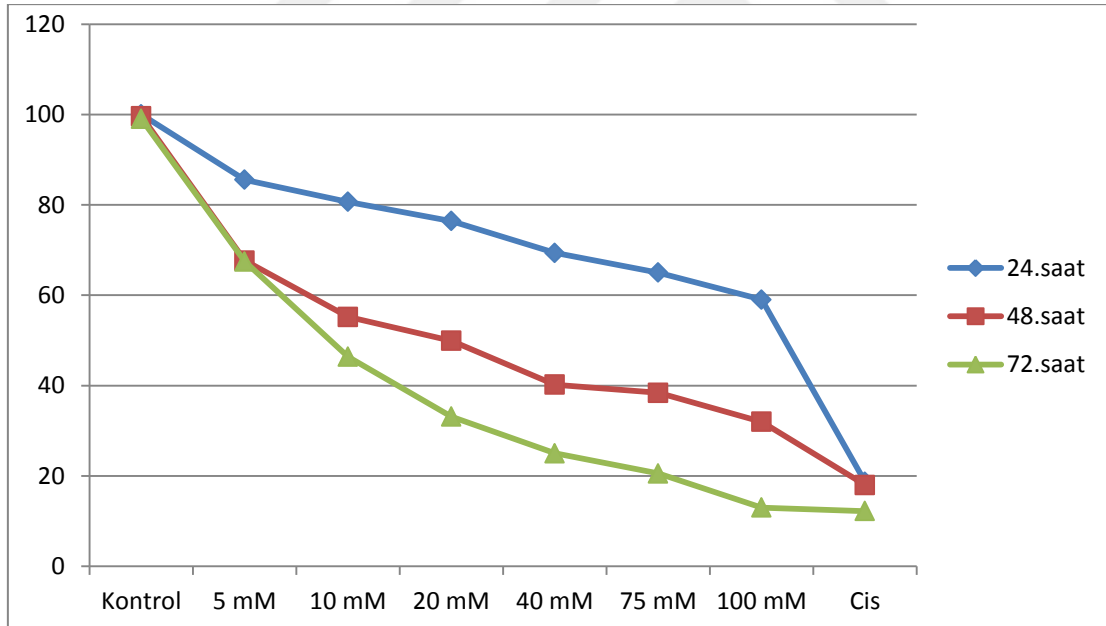


## 4. BULGULAR

### 4.1. MCF-7 Hücrelerinde CCK-8 Proliferasyon Bulguları

Literatür taraması yapılan ön çalışmalar sonucunda MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı için borik asidin doz aralığı 5,10,20,40,75,100 olarak belirlendi. Hücrelerin canlılık oranı için 24,48 ve 72 saat sonunda yapılan kontrollerde en iyi sonuçlar 48.saatte alındı ve LD50 dozu 20 mM olarak belirlendi. Yapılan diğer deneylerde bu zaman ve konsantrasyon esas alındı.

Çizelge 4.1. Canlılık – Konsantrasyon Grafiği



## 4.2. PARP ve VEGF Analizi Bulguları

Borik asidin 10,20,40 mM'lık konsantrasyonları MCF-7 insan meme kanseri hücre hattında uygulandı ve ELİSA yöntemiyle PARP ve VEGF analizleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.2 de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2. PARP ve VEGF Sonuçları

	PARP (ng\L)	VEGF (ng\L)
<b>Control</b>	0,348± 0,03 <sup>a</sup>	0,96 ± 0,03 <sup>a</sup>
<b>Bor 10 mM</b>	0,779± 0,07 <sup>b</sup>	0,095 ± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Bor 20 mM</b>	0,768± 0,01 <sup>b</sup>	0,098± 0,01 <sup>b</sup>
<b>Bor 40 mM</b>	0,757± 0,05 <sup>b</sup>	0,091 ± 0,05 <sup>b</sup>
<b>Cis Platin</b>	0,736± 0,02 <sup>b</sup>	0,82 ± 0,04 <sup>c</sup>

\*\* a, b, c: Aynı sütundaki aynı harfler, ANOVA-Duncan testine göre önemli ölçüde farklı değildir (P <0.05).

## 4.3. TAS ve TOS Analizi Bulguları

Farklı konsantrasyonlardaki (10, 20, 40 mM) borik asitler MCF-7 insan meme kanseri hücre hattına uygulandı ve ELİSA yöntemiyle TAS-TOS analizleri yapıldı. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.3 te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. TAS-TOS Analiz Sonuçları

	TAS mmol/L	TOS mmol/L
Control	0,84±0,14 <sup>a</sup>	0,67±0,14 <sup>a</sup>
Bor 10 mM	0,91±0,37 <sup>a</sup>	1,01±0,31 <sup>b</sup>
Bor 20 mM	1,02±0,49 <sup>b</sup>	1,05±0,14 <sup>b</sup>
Bor 40 mM	1,23±0,16 <sup>b</sup>	1,08±0,14 <sup>b</sup>
Cis Platin	1,09±0,24 <sup>b</sup>	1,15±0,07 <sup>b</sup>

\*\* a, b, c: Aynı sütundaki aynı harfler, ANOVA-Duncan testine göre önemli ölçüde farklı değildir (P <0.05).

## 5. TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür ve dünyada kadın ölümünün nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Meme kanserine bir çözüm bulmak için, farklı ilaçlar ve maddelerin bu hastalık üzerindeki tedavisi üzerinde farklı çalışmalar yapılmaktadır ve yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Bu çalışmanın amacı, meme kanseri hücre hattında (MCF-7) borik asit kullanımının antiproliferatif, apoptotik, anjiyogenik ve antioksidan etkilerini araştırmaktır.

Kemoterapötik ajanlar neoplastik hücelere zarar verirken, bazı normal hücreler etkilenir ve çeşitli yan etkilere neden olur. Borik asidin belirli kanser hücreleri türlerinin çoğalmasını kontrol ettiği gösterilmiştir. Borik asit, peptitler, proteazlar, proteazomlar, arginaz, nitrik oksit sentaz ve transpeptidazların bir inhibitörüdür. Borik asit güçlü bir antioksidan etkiye sahiptir, özellikle kanser tedavisinde kullanılan ilaçların yan etkilerini azaltmada ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesinin düşürülmesi önemlidir [105].

Barranco ve Echert, DU-145 prostat kanseri hücre hattında 60 mM'de borik asit tarafından proliferatif inhibisyon belirlemiş ve borik asidin büyümeyi baskıladığını gözlemlemiştir. Bu konsantrasyon farmakolojik anti-kanser ilaçlarından daha yüksek olmasına rağmen, insan diyetinde ve farmakolojik çalışmalarında bu aralıktaki bor konsantrasyon seviyelerinin normal olduğu bildirilmiştir. İnsanlarda bor seviyelerinin diyet alımını yansıttığı ve bu değerlerin 13 ila 70 mM arasında değiştiği bildirilmiştir [11].

Scorei R. ve diğ. borik asit ve kalsiyum fruktoboratin meme kanseri hücre dizisi MDA-MB-231 üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Farklı dozlarda borik asit ve fruktoboratin (0.45-22.5 mM) hücre canlılığı üzerindeki etkileri 3- (4,5-dimetiltiyazolil-2) -2,5-difeniltetrazolium bromür (MMT) yöntemi ile analiz etmiştir. CF ve BA'nın MDA-MB-231 hücrelerinde konsantrasyona bağlı bir sitotoksiste indüklediği gösterilmiştir [10].

Ceyhan ve ark. DU-145 insan prostat kanseri hücre hattında yüksek konsantrasyonlarda borik asidin oksidatif stres, apoptotik yollar ve morfolojik değişikliklerini araştırmıştır. 24 saat sonra değişen dozlarda uygulanan borik asidin (0-16,15 mM) hücre canlılığı üzerindeki etkileri MTT testi ile analiz edilmiştir. Borik asit içeren hücrelerin kontrole kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu

bulunmuştur [106]. Çalışmamızda 5 mM, 10 mM, 20 mM, 40 mM ve 100 mM borik asit uygulandı ve MCF-7 meme kanseri hücrelerinde 24., 48. ve 72. saatlerde hücre proliferasyonunda doğru orantılı bir düşüş gözlemlendi. Bununla birlikte, 72. saat verilerinden çok yüksek anti-proliferatif etki elde edildi. En anlamlı sonuçlar 48. saatte elde edildi, diğer biyokimyasal analizler bu saat baz alınarak yapıldı. Borik asidin hücrelere uygulanan farklı konsantrasyonlarda (0-100 mM) etkisi 48 saat sonra incelenmiş ve kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur.

PARP'lar, kofaktör olarak NAD + kullanarak bir ADP-riboz grubunu spesifik bir alıcı protein üzerine aktaran ortak bir katalitik bölge ile karakterize edilen 17 nükleoprotein ailesidir. Çoğu PARP üyesi hedef proteinlerine sadece bir mono-ADP riboz grubunu aktarabilirken, PARP1, PARP2, PARP3, PARP5a, PARP5b karakteristik olarak tekrarlanan ADP-riboz birimlerini ekleyerek uzun poli (ADP-riboz) (PAR) zincirleri üretir [107]. Bu translasyon sonrası protein modifikasyonuna PARilasyon denir ve PARP'lerin farklı hücrel aktivitelere dahil olmasını sağlar. Bu bağlamda, PARP1 en iyi karakterize edilmiş PARP'dir [108]. PARP, DNA onarımı ve transkripsiyonel regülasyonda rol oynar ve şu anda hücre hayatta kalmasında ve hücre ölümünde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca, tümör gelişiminde rol oynayan birçok transkripsiyon faktörünün ana bileşeni olarak kabul edilir [109].

Kaspazanın ilk tanımlanmış substratlarından biri olan PARP, özellikle apoptoz ve nekrozda hayati bir role sahiptir. Apoptoz işleminde kaspaz 7 ve kaspaz 3, Asp214 ve Gly215 arasında PARP'ı ayırır ve p85 ve p25'i parçalarına ayırır. PARP bölünmesi DBD'yi katalitik alandan ayırır ve enzimleri etkisiz hale getirir. Bu, apoptoz sırasında DNA fragmentasyonuna yanıt olarak PARP aktivasyonunu ortadan kaldırır ve nekrotik hücre ölümünde gerekli ATP tüketimini ve DNA onarımı için gereken boş çabaları engeller. Böylece, PARP bölünmesi hücrenin apoptotik yola girmesine yardımcı olur ve apoptozun ayırt edici özelliği olarak kabul edilir [92, 94]. Yüksek dozda borik asitin (12,5-50 mM) hücre replikasyonunu yavaşlattığı ve hem melanom hücrelerinde hem de MDA231 meme kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediği gösterilmiştir [9-10].

Bir çalışmada, 48 saat boyunca DPB (Disodyum Pentaboratdecahydrate) ile tedavi edilen BPH-1 (Benign Prostat Hiperplazi Hücre Hattı) hücre hatlarında PARP proteininin doza bağlı azalması, DNA'nın onarım mekanizması yoluna girmediğini göstermiştir.

Yarıklanmış PARP seviyesindeki zıt artış, hücrelerin apoptoz yoluna girdiğini gösterir [110]. PARP, DNA'daki hasar miktarına göre çalışır. DNA hasarı çok yüksekse, PARP hücreyi ATP / NAD tüketimi ile nekroza yönlendirir. DNA hasarı minimum ise, PARP diğer DNA onarım enzimleriyle birlikte hücrenin hayatta kalmasına yardımcı olabilir. Eğer kaspaz aktive edilirse, kaspaz ailesinden apoptozda kritik bir rol oynayan ve PARP'ın yarılmasından ana sorumlu olan kaspaz, PARP bölünmesi yaparak hücre apoptozuna girer [95]. Bu çalışmada, PARP düzeyi MCF-7 meme kanseri hücre hattında kontrol grubuna göre daha yüksekti ve aralarında anlamlı bir fark vardı. Cisplatin grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. Deney sonucunda PARP değerleri cisplatin ve borik asit konsantrasyon gruplarında daha yüksekti. Bu durum PARP'ın aşırı aktivasyonu sonucunda ihtiyaç duyulan ATP ve NAD'ın karşılanamamasından kaynaklı olarak hücrenin apoptotik değil de nekrotik ölüme gittiğini düşündürmektedir. Aynı şekilde borik asit gruplarının da PARP seviyesini yükselterek hücrenin nekrotik ölüme gittiğini göstermektedir.

Vasküler geçirgenlik faktörü (VGF) olarak bilinen vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), endotelial hücreye özgü mitojen olarak tanımlanır. VEGF, tümör hücreleri, trombositler, makrofajlar, keratinositler ve böbrek mesanjiyal hücreleri dahil olmak üzere birçok hücre tipi tarafından üretilir. VEGF'nin aktiviteleri vasküler sistemle sınırlı değildir; VEGF, hematopoez, kemik oluşumu, yara iyileşmesi ve gelişimi gibi fizyolojik fonksiyonlarda rol oynar [111]. 2009 yılında yayınlanan makaleye göre, endometriyal ve meme kanserlerinde yüksek serum VEGF seviyeleri artmıştır. Bununla birlikte, fibroadenom veya endometriyal hiperplazi gibi iyi huylu nedenlerden dolayı yükselir. Ayrıca, bu yüksek serum VEGF seviyeleri tümör hücrelerinde artmıştır. VEGFR-2 / KDR aktivitesinin, tümör ilerlemesiyle yakından ilişkili olduğu bulunmuştur [112].

Pedro ve diğ. 2012 yılında yayınlanan bir çalışmada, mide kanseri hastalarında preoperatif ve postoperatif serum VEGF ve VEGF-C düzeyleri karşılaştırılmış ve postoperatif dönemde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Bu bulguya dayanarak, serum VEGF düzeyinin takip edilmesinin ilerlemenin gösterilmesinde yararlı olabileceği, yüksek preoperatif serum VEGF düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olabileceği ve neoadjuvan tedavinin bu hastalarda yararlı olabileceği düşünülmektedir [113]. Kolon kanseri olan hastalarda yapılan bir çalışmada serum VEGF-C ve doku VEGF-C ekspresyonunun artmış lenf nodu metastazı ve kötü prognoz ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [114].

2011 yılında Ito ve ark. aynı türden iki farenin meme dokusunda yüksek ve düşük metastaz potansiyeli olan iki ayrı meme kanseri doku kültürü yayınlanmış ve LVD ve VEGF-C düzeylerini incelemiştir. Yüksek malignite potansiyeli olan fare daha fazla LVD ve artmış VEGF-C seviyeleri göstermiştir. Eş zamanlı artmış aksiller lenf nodu metastazı görülmüştür [115]. Bu çalışmada, MCF-7 kanser hücre dizisindeki VEGF değerlerinde, kontrol grubu, bor grupları ve cisplatin grubu arasında anlamlı farklılıklar görülmüştür.

Ceyhan ve ark. DU-145 insan prostat kanseri hücre hattında borik asidin yüksek konsantrasyonlarının oksidatif strese etkisini incelemiştir. Oksidan ve antioksidan durumu ölçmek için TAS-TOS parametreleri kullanılmıştır. Kontrolle karşılaştırıldığında artan borik asit konsantrasyonlarına maruz kalan DU-145 hücrelerinde TOS seviyelerinde önemli bir artış gerçekleşirken, konsantrasyona bağlı borik asit TAS seviyelerinde önemli bir azalma gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada borik asit proliferasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlar. Borik asit tedavisinin, DU-145 prostat kanseri hücre hattında TAS'ı azaltarak ve TOS seviyelerini artırarak oksidatif stresi tetiklediği sonucuna varmışlardır [116]. Yapılan bu çalışmada TOS seviyelerinin kontrol grubuna göre arttığı gözlemlenmiştir. Aynı zamanda 20 mM, 40 mM borik asit gruplarının ve cisplatin grubunun TAS seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir. 10 mM borik asit grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Bu durum hücrenin oksidatif strese girdiğini ve buna karşılık antioksidan seviyelerini, denge kurmak amacıyla arttırdığını düşündürmektedir. Alınan sonuçlar borik asidin doza bağımlı antiproliferatif etkileri olduğunu ve anjiyogenezi önlediğini göstermektedir.

Sonuç olarak uygulanan borik asit konsantrasyonları MCF-7 meme kanseri hücre hattında antiproliferatif etki göstermiştir. Borik asidin VEGF seviyelerini azalttığı, PARP seviyelerini ise arttırdığı belirlenmiştir. TAS-TOS analizlerinde ise her ikisinde de artış göstermiştir. Kansere karşı kemoterapik çalışmaların birçok aktif madde üzerinde yapıldığını, kanser tedavisinde birçok farklı alanda borun kullanıldığını ve bor takviyesinin moleküler etkilerinin daha ileri çalışmalarla açıklanması gerektiğini düşünmekteyiz.



## KAYNAKLAR

- [1] T.C. Sağlık Bakanlığı Kanserle Savaş Politikası ve Kanser verileri, (1995–1999), Kanser Savaş Dairesi Başkanlığı Bakanlık Yayın No: 168, 2002; Ankara.
- [2] Yılmaz, MR. (2002), Meme kanserinin epidemiyolojisi ve etiyojisi. Esin Emin Üstün (ed). Meme kanseri. Ayın Kitabı, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Yayın Bürosu, İzmir, 25-40.
- [3] Henson,HK. Meme Kanseri ve Cinsellik. *Sexuality and Disability* 20(4)2002:261-275, Çeviri: D. Aygin, *Androloji Bülteni*,sayı:19,2004;366- 7.
- [4] ThorsCL, Broeckel JA, Jacobsen PB.(2001), Sexual Functioning in Breast Cancer Survivors, *Cancer Control*, 8 (5);442-448.
- [5] Soule, HD, Vazquez J, Long A, Albert S, &Brennan M. (1973), A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J NatlCancerInst*, 51(5), 1409-1416.
- [6] Chodosh, LA. (1998), Ekspression of BRCA1 and BRCA2 in normal andneoplasticcells. *Journalof Mammary Gland Biology and Neoplsia*, 3, 389-402.
- [7] Martin AM, Weber BL. (2000), Geneticand hormonal risk factors in breast cancer. *Journal of the National Cancer Institut*, 92, 1126-1135.
- [8] Martin SP, Pike MC, Ross RK, Jones PA, Henderson BE. (1990), Increased cell division as a cause of human cancer. *Cancer Research*, 50, 7415-7421.
- [9] Acerbo, A.S. & Miller, L. (2009), Assessment of the chemical changes induced in human melanoma cells by boric acid treatment usingin fraredim aging. *Analyst*, Vol. 134, pp. 1669-1674.
- [10] Scorei, R.;Ciubar, R.; Ciofrangeanu, C.M.; Mitran, V.; Cimpean, A. &Iordachescu, D. (2008), Comparative effects of boric acid and calcium fructoborate on breast cancer cells. *Biological Trace Element Research*, Vol. 122, pp. 197-205.
- [11] Barranco, W. T., & Eckhert, C. D. (2004). *Boric acid inhibits human prostate cancer cell proliferation. Cancer Letters*, 216(1), 21–29. doi:10.1016/j.canlet.2004.06.001.

- [12] Bradke, T.; Hall, C.; Stephen, W.; Carper, S.W.; Plopper, G.E. (2008), Phenylboronic acid selectively inhibits human prostate and breast cancer cell migration and decreases viability. *Cell Adh. Migr*, 2, 153-160.
- [13] Atıcı, E., 2010, “Tümör immünolojisi”, *Turkish Journal of Immunology*, 15: 7-13.
- [14] Division of Cancer Prevention and Control, Centers for Disease Control and Prevention) (2018) <https://www.cdc.gov/cancer/dcpc>
- [15] Gunduz M and Gunduz E: Preface. In: *Breast Cancer – Carcinogenesis, Cell Growth and Signalling Pathways*. Rijeka, InTech, p XI, 2011.
- [16] Done SJ: Preface. In *Breast Cancer - Recent Advances in Biology, Imaging and Therapeutics*. Rijeka, InTech, p IX, 2011.
- [17] Burdall S, Hanby A, Lansdown MR and Speirs V: Breast cancer cell lines: friend or foe? *Breast Cancer Res* 5: 89-95, 2003.
- [18] Sweeney EE, Mcdaniel RE, Maximov PY, Fan P and Craig V: Models and Mechanisms of Acquired Antihormone Resistance in Breast Cancer: Significant Clinical Progress Despite Limitations. *Horm Mol Biol Clin Investig* 9: 143-163, 2013.
- [19] Soule HD, Vazquez J, Long A, Albert S and Brennan M: A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 51: 1409-1416, 1973.
- [20] Levenson AS and Jordan VC: MCF-7: The First Hormonerresponsive Breast Cancer Cell Line. *Cancer Res* 57: 3071-3078, 1997.
- [21] Baguley BC and Leung E: Heterogeneity of Phenotype in Breast Cancer Cell Lines. In: *Breast Cancer - Carcinogenesis, Cell Growth and Signalling Pathways* (Gunduz M, Gunduz E (eds.)). Rijeka, InTech, pp. 245-256, 2011.
- [22] Shirazi FH: Remarks in Successful Cellular Investigations for Fighting Breast Cancer Using Novel Synthetic Compounds. In: *Breast Cancer – Focusing Tumor Microenvironment, Stem Cells and Metastasis* (Gunduz M, Gunduz E (eds.)). Rijeka, InTech, pp. 85-102, 2011.
- [23] Gest C, Joimel U, Huang L, Pritchard LL, Petit A, Dulong C, Buquet C, Hu CQ, Mirshahi P, Lauren M, Fauvel-Lafève F, Cazin L, Vannier JP, Lu H, Soria J, Li H, Varin R and Soria C: Rac3 induces a molecular pathway triggering breast cancer

- cell aggressiveness: differences in MDA-MB-231 and MCF-7 breast cancer cell lines. *BMC Cancer* 13: 63, 2013.
- [24] Nugoli M, Chuchana P, Vendrell J, Orsetti B, Ursule L, Nguyen C, Birnbaum D, Douzery EJP, Cohen P and Theillet C: Genetic variability in MCF-7 sublines: evidence of rapid genomic and RNA expression profile modifications. *BMC Cancer* 12: 1-12, 2003.
- [25] Comşa Ş, Ciuculescu F and Raica M: Mesenchymal stem cell tumor cell cooperation in breast cancer vasculogenesis. *Mol Med Rep* 5: 1175-1180, 2012.
- [26] Barabutis N, Tsellou E, Schally AV, Kouloheri S, Kalofoutis A and Kiaris H: Stimulation of proliferation of MCF-7 breast cancer cells by a transfected splice variant of growth hormone releasing hormone receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 5575–5579, 2007.
- [27] Perrot-Appianat M and Di Benedetto M: Autocrine functions of VEGF in breast tumor cells: adhesion, survival, migration and invasion. *Cell Adh Migr* 6: 547-553, 2012.
- [28] Buteau-Iozano H, Ancelin M and Lardeux B: Transcriptional Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor by Estradiol and Tamoxifen in Breast Cancer Cells: A Complex Interplay between Estrogen Receptors  $\alpha$  and  $\beta$  Transcriptional Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor by Estradiol and T. *Cancer Res* 62: 4977-4984, 2002.
- [29] Brooks SC, Locke ER and Soule HD: Estrogen Receptor in a Human Cell Line (MCF-7) from Breast Carcinoma. *J Biol Chem* 248: 6251-6253, 1973.
- [30] Hamelers IHL, Schaik RFMA Van, Sussenbach JS and Steenbergh PH: 17 $\beta$ -Estradiol responsiveness of MCF-7 laboratory strains is dependent on an autocrine signal activating the IGF type I receptor. *Cancer Cell Int* 3: 10, 2003.
- [31] Martin EC, Bratton MR, Zhu Y, Rhodes L V, Tilghman SL, Collins-Burow BM and Burow ME: Insulin-like growth factor-1 signaling regulates miRNA expression in MCF-7 breast cancer cell line. *PLoS One* 7: e49067, 2012.
- [32] Leung E, Kim JE, Askarian-amiri M, Finlay GJ and Baguley C: Evidence for the Existence of Triple-Negative Variants in the MCF7 Breast Cancer Cell Population. *Biomed Res Int* 2014: 1-7, 2014.

- [33] D'Anselmi F, Masiello MG, Cucina A, Proietti S, Dinicola S, Pasqualato A, Ricci G, Dobrowolny G, Catizone A, Palombo A and Bizzarri M: Microenvironment promotes tumor cell reprogramming in human breast cancer cell lines. *PLoS One* 8: e83770, 2013.
- [34] Pérez-Yépez EA, Ayala-Summano J-T, Reveles-Espinoza AM and Meza I: Selection of a MCF-7 Breast Cancer Cell Subpopulation with High Sensitivity to IL-1 $\beta$ : Characterization of and Correlation between Morphological and Molecular Changes Leading to Increased Invasiveness. *Int J Breast Cancer* 2012: 609148, 2012.
- [35] Dittmer A, Hohlfeld K, Lützkendorf J, Müller LP and Dittmer J: Human mesenchymal stem cells induce E-cadherin degradation in breast carcinoma spheroids by activating ADAM10. *Cell Mol life Sci* 66: 3053-3065, 2009.
- [36] Dupont J and Roith D Le: Insulin-like growth factor 1 and oestradiol promote cell proliferation of MCF-7 breast cancer cells: new insights into their synergistic effects. *J Clin Pathol Mol Pathol* 54: 149-154, 2001.
- [37] Timoshenko A V, Chakraborty C, Wagner GF and Lala PK: COX2-mediated stimulation of the lymphangiogenic factor VEGF-C in human breast cancer. *Br J Cancer* 94: 1154-1163, 2006.
- [38] Lee T-H, Seng S, Sekine M, Hinton C, Fu Y, Avraham HK and Avraham S: Vascular endothelial growth factor mediates intracrine survival in human breast carcinoma cells through internally expressed VEGFR1/FLT1. *PLoS Med* 4: e186, 2007.
- [39] Guo P, Fang Q, Tao H, Schafer CA, Fenton BM, Ding I and Hu B: Overexpression of Vascular Endothelial Growth Factor by MCF-7 Breast Cancer Cells Promotes Estrogen-independent Tumor Growth in Vivo Overexpression of Vascular Endothelial Growth Factor by MCF-7 Breast Cancer Cells Promotes Estrogenindependent Tumor Grow. *Cancer Res* 63: 4684-4691, 2003.
- [40] Garvin S, Nilsson UW and Dabrosin C: Effects of oestradiol and tamoxifen on VEGF, soluble VEGFR-1, and VEGFR-2 in breast cancer and endothelial cells. *Br J Cancer* 93: 1005-1010, 2005.
- [41] Zhang HT, Craft P, Scott PA, Ziche M, Weich HA, Harris AL and Bicknell R: Enhancement of Tumor Growth and Vascular Density by Transfection of Vascular

- Endothelial Cell Growth Factor Into MCF-7 Human Breast Carcinoma Cells. *J Natl Cancer Inst* 87: 213-219, 1995.
- [42] Lee JE, Chung KW, Han W, Kim SW, Kim SW, Shin HJ, Bae JY and Noh DY: Effect of estrogen, tamoxifen and epidermal growth factor on the transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor in breast cancer cells. *Anticancer Res* 24: 3961-3964, 2004.
- [43] Aonuma M, Saeki Y, Akimoto T, Nakayama Y, Hattori C, Yoshitake Y, Nishikawa K, Shibuya M and Tanaka NG: Vascular endothelial growth factor overproduced by tumour cells acts predominantly as a potent angiogenic factor contributing to malignant progression. *Int J Exp Pathol* 80: 271-281, 1999.
- [44] Harrell JC1, Dye WW, Allred DC, Jedlicka P, Spoelstra NS, Sartorius CA and Horwitz KB: Estrogen receptor positive breast cancer metastasis: altered hormonal sensitivity and tumor aggressiveness in lymphatic vessels and lymph nodes. *Cancer Res* 66: 9308-9315, 2006.
- [45] Karpanen T, Egeblad M, Karkkainen MJ, Kubo H, Ylä-Herttuala S, Jäättelä M and Alitalo K: Vascular Endothelial Growth Factor C Promotes Tumor Lymphangiogenesis and Intralymphatic Tumor Growth. *Cancer Res* 61: 1786-1790, 2001.
- [46] Akahane M, Akahane T, Shah A, Okajima E and Thorgeirsson UP: A potential role for vascular endothelial growth factor-D as an autocrine growth factor for human breast carcinoma cells. *Anticancer Res* 25: 701-707, 2005.
- [47] Currie MJ1, Hanrahan V, Gunningham SP, Morrin HR, Frampton C, Han C, Robinson BA and Fox SB: Expression of vascular endothelial growth factor D is associated with hypoxia inducible factor (HIF-1alpha) and the HIF-1alpha target gene DEC1, but not lymph node metastasis in primary human breast carcinomas. *J Clin Pathol* 57: 829-834, 2004.
- [48] Tsai PW, Shiah SG, Lin MT, Wu CW and Kuo ML: Upregulation of vascular endothelial growth factor C in breast cancer cells by heregulin-beta 1. A critical role of p38/nuclear factor-kappa B signaling pathway. *J Biol Chem* 278: 5750-5759, 2003.

- [49] Helsinki B, Hospital JR and Kingdom U: Short report VEGF-C induced lymphangiogenesis is associated with lymph node metastasis in orthotopic MCF-7 tumors. 951: 946-951, 2002.
- [50] F.S. Kot, "Boron sources, speciation and its potential impact on health", Rev. Environ. Sci. Biotechnol., vol. 8, pp. 3-28, 2009.
- [51] Argut, "Distribution of boron in the environment", Biol. Trace Elem. Res., vol. 66, pp. 131-143, 1998.
- [52] Barranco, W.T. & Eckhert, C.D. (2006). Cellular changes in boric acid treated DU-145 prostate cancer cells. *British Journal of Cancer*, Vol. 94, pp. 884- 890.
- [53] Barranco, W.T.; Kim, H.T; Stella Jr., S.L. & Eckhert, C.D. (2009). Boric acid inhibits stored Ca<sup>2+</sup> release in DU-145 prostate cancer cells. *Cell Biology and Toxicology*, Vol. 25, pp. 309-320.
- [54] Hunt, C.D. (1998). Regulation of enzymatic activity: one possible role of dietary boron in higher animals and humans. *Biological Trace Element Research*, Vol. 66, pp. 205-225.
- [55] Scorei, R. & Popa, R. (2010). Boron-containing compounds as preventive and chemotherapeutic agents for cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, Vol. 10, pp. 346–351.
- [56] Rainey, C. & Nyquist, L. (1998). Multicountry estimation of dietary boron intake. *Biological Trace Element Research*, Vol. 66, pp. 79-86.
- [57] Nielsen, F.H. (2009). Boron deprivation decreases liver S adenosylmethionine and spermidine and increases plasma homocysteine and cysteine in rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, Vol. 23, pp. 204-213.
- [58] Scorei, R. & Rotaru, P. (2011). Calcium fructoborate-potential anti-inflammatory agent. *Biological Trace Element Research*, DOI: 10.1007/s12011-011-8972-6.
- [59] Nielsen, F.H.; Hunt, C.D.; Mullen, L.M. & Hunt, J.R. (1987). Effect of dietary boron on mineral, estrogen, and testosterone metabolism in postmenopausal women. *FASEB Journal*, Vol. 1, pp. 394–7.
- [60] Naghii, M.R. & Samman, S. (1997). The effect of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subjects. *Biological Trace Element Research*, Vol. 56, pp. 273–86.

- [61] Naghii, M.R.; Mofid, M.; Asgari, A.R.; Hedayati, M. & Daneshpour M-S. (2010). Comparative effects of daily and weekly boron supplementation on plasma steroid hormones and pro-inflammatory cytokines. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, [Epub ahead of print].
- [62] McTiernan, A.; Rajan, K.B.; Tworoger, S.S.; Irwin, M.; Bernstein, L.; Baumgartner, R.; Gilliland, F.; Stanczyk, F.Z.; Yasui, Y. & Ballard-Barbash, R. (2003). Adiposity and Sex Hormones in Postmenopausal Breast Cancer Survivors. *Journal of Clinical Oncology*, Vol. 21, No. 10, pp. 1961-1966.
- [63] Hofling, M.; Hirschberg, A.L.; Skoog, L.; Tani, E.; Hagerstrom, T. & von Schoultz, B. (2007). Testosterone inhibits estrogen/progestogen-induced breast cell proliferation in postmenopausal women. *Menopause*, Vol. 14, No. 2, pp. 183-190.
- [64] Dimitrakakis, C.; Zava, D.; Marinopoulos, S.; Tsigginou, A.; Antsaklis, A. & Glaser, R. (2010). Low salivary testosterone levels in patients with breast cancer *BMC. Cancer*, Vol. 10, pp. 547.
- [65] Kabu, M., Civelek, T., 2012, "Effects of propylene glycol, methionine and sodium borate on metabolic profile in dairy cattle during periparturient period", *Rev. Med. Vet.*, 163(8):419–430.
- [66] Devirian, T.A., Volpe, S.L., 2003, "The physiological effects of dietary boron", *Crit. Rev. Food Sci.*, 43(2):219–231.
- [67] Moustafa, S.R., 2015, "Clinical association between alterations of boron, cesium, rhenium and rubidium with the pathogenesis of atherosclerosis", *Am. J. Clin. Exp. Med.*, 3(5):247–254.
- [68] Sogut, I., Paltun, S.O., Tuncdemir, M., Ersoz, M., Hurdag, C., 2018, "The antioxidant and anti-apoptotic effect of boric acid on hepatotoxicity in chronic alcohol-fed rats", *Can J. Physiol Pharmacol.*, 96(4):404-411.
- [69] Coates, P.M., Blackman, M., Betz, J.M., Cragg, G.M., Levine, M.A., Moss, J., White, J.D., 2010, "Boron", In *Encyclopedia of Dietary Supplements*, 2nd ed., *Informa Healthcare*, 82-87.
- [70] Nielsen, F.H., 2008, "Is boron nutritionally relevant?" *Nutr. Rev.*, 66(4): 183–191.
- [71] Henderson, K., Stella, S.L., Kobylewski, S., Eckhert, C.D., 2009, "Receptor activated Ca(2+) release is inhibited by boric acid in prostate cancer cells", *PLoS One*, 4(6):e6009.

- [72] Sogut, I., Oglakci, A., Kartkaya, K., Ol, K.K., Sogut, M.S., Kanbak, G., Inal, M.E., 2015, "Effect of boric acid on oxidative stress in rats with fetal alcohol syndrome", *Exp. Ther. Med.*, 9(3):1023–1027.
- [73] Ustundag, A., Behm, C., Follmann, W., Duydu, Y., Degen, G.H., 2014, "Protective effect of boric acid on lead and cadmium-induced genotoxicity in V79 cells", *Arch. Toxicol.*, 88(6):1281–1289.
- [74] Coban, F.K., Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H.H., Hazman, O., 2015, "Boron attenuates malathion-induced oxidative stress and acetylcholinesterase inhibition in rats", *Drug. Chem. Toxicol.*, 38(4):391–399.
- [75] Ince, S., Keles, H., Erdogan, M., Hazman, O., Kucukkurt, I., 2012, "Protective effect of boric acid against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice", *Drug. Chem. Toxicol.*, 35(3):285–292.
- [76] Ince, S., Kucukkurt, I., Cigerci, I.H., Fatih, F.A., Eryavuz, A., 2010, "The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats", *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 24(3):161–164.
- [77] Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H.H., Acaroz, D.A., Akbel, E., Cigerci, I.H., 2014, "Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats", *Chemosphere*, 108:197–204.
- [78] El-Demerdash, F.M., 2011, "Lipid peroxidation, oxidative stress and acetylcholinesterase in rat brain exposed to organophosphate and pyrethroid insecticides", *Food Chem. Toxicol.*, 49(6):1346–1352.
- [79] Balabanli, B., Balaban, T., 2015, "Investigation into the effects of boron on liver tissue protein carbonyl, MDA, and glutathione levels in endotoxemia", *Biol. Trace Elem. Res.*, 167(2):259–263.
- [80] Hu, Q., Li, S., Qiao, E., Tang, Z., Jin, E., Jin, G., Gu, Y., 2014, "Effects of boron on structure and antioxidative activities of spleen in rats", *Biol. Trace Elem. Res.*, 158(1):73–80.
- [81] Cao, J., Jiang, L., Zhang, X., Yao, X., Geng, C., Xue, X., Zhong, L., 2008, "Boric acid inhibits LPS induced TNF-alpha formation through a thiol-dependent mechanism in THP-1 cells", *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 22(3):189–195.



- [82] Yazici, S., Aksit, H., Korkut, O., Sunay, B., Celik, T., 2014, "Effects of boric acid and 2- aminoethoxydiphenyl borate on necrotizing enterocolitis", *J. Pediatr. Gastroenterol Nutr.*, 58(1):61–67.
- [83] Zafar, H., Ali, S., 2013, "Boron inhibits the proliferating cell nuclear antigen index, molybdenum containing proteins and ameliorates oxidative stress in hepatocellular carcinoma", *Arch. Biochem. Biophys.*, 529(2):66–74.
- [84] Turkez, H., Geyikoglu, F., Tatar, A., Keles, M.S., Kaplan, I., 2012, "The effects of some boron compounds against heavy metal toxicity in human blood", *Exp. Toxicol. Pathol.*, 64(1-2):93–101.
- [85] Belenky, P., Bogan, K. L., Brenner, C., 2007, "NAD<sup>+</sup> metabolism in health and disease" *Trends in Biochemical Sciences*, 32 (1): 12–19.
- [86] Pollak, N., Dölle, C., Ziegler, M., 2007, "The power to reduce: pyridine nucleotides—small molecules with a multitude of functions", *Biochemical Journal*, 402 (2): 205–218.
- [87] Gallardo-Williams, M. T., Chapin, R. E., King, P. E., Moser, G. J., Goldsworthy, T. L., Morrison, J. P., Maronpot, R. R., 2004, "Boron supplementation inhibits the growth and local expression of IGF-1 in human prostate adenocarcinoma (LNCaP) tumors in nude mice", *Toxicologic Pathology*, 32 (1): 73–78.
- [88] Saikali, Z., Setya, H., Singh, G., Persad, S., 2008, "Role of IGF-1/IGF1R in regulation of invasion in DU145 prostate cancer cells", *Cancer Cell International*, 8 (1): 10.
- [89] Kawada, M., Inoue, H., Arakawa, M., Ikeda, D., 2008, "Transforming growth factor- $\beta$ 1 modulates tumor-stromal cell interactions of prostate cancer through insulin-like growth factor-I", *Anticancer Research*, 28 (2A): 721–730.
- [90] McAuley, E. M., Bradke, T. A., Plopper, G. E., 2011, "Phenylboronic acid is a more potent inhibitor than boric acid of key signaling networks involved in cancer cell migration", *Cell Adhesion and Migration*, 5 (5): 382–386.
- [91] Mahabir, S., Spitz, M. R., Barrera, S. L., Dong, Y. Q., Eastham, C., Forman, M. R., 2008, "Dietary boron and hormone replacement therapy as risk factors for lung cancer in women", *American Journal of Epidemiology*, 167 (9): 1070–1080.
- [92] Elisa Cleaved PARP Kit, (2011), Katalog No: KHO0741, Invitrogen Corporation, Kalifornia, A.B.D. ([www.invitrogen.com](http://www.invitrogen.com))

- [93] Rouleau, M., Patel, A., Hendzel, M. J., Kaufmann, S. H., Poirier, G. G., 2010, “PARP inhibition: PARP1 and beyond”, *Nature Reviews Cardiology*, 10 (4): 293–301.
- [94] Chiarugi, A., Moskowitz, M. A., 2002, “PARP-1-a perpetrator of apoptotic cell death?”, *Science*, 297 (5579): 200-201.
- [95] Boulares, A. H., Yakovlev, A. G., Ivanova, V., Stoica, B. A., Wang, G., Iyer, S., Smulson, M., 1999, “Role of Poly(ADP-ribose) Polymerase (PARP) Cleavage in Apoptosis”, *The Journal of Biological Chemistry*, 274 (33): 22932–22940.
- [96] Zhu, G., Chang, P., Lippard, S. J., 2010, “Recognition of platinum– DNA damage by poly (ADP-ribose) polymerase-1”, *Biochemistry*, 49 (29): 6177–6183.
- [97] Internet: U.S. Department of Health and Human Services & National Institutes of Health, 2006, “National Institutes of Health. What You Need To Know About Cancer of the Colon and Rectum”, [https://m.mycareplusonline.com/sites/default/files/cmfiles/WYNTK\\_Colon\\_Cancer.pdf](https://m.mycareplusonline.com/sites/default/files/cmfiles/WYNTK_Colon_Cancer.pdf) .
- [98] Jeter, J.M., Kohlmann, W., Gruber, S.B., 2006, “Genetics of colorectal cancer”, *Oncology*, 20(3):269–276.
- [99] Al-Sukhni, W., Aronson, M., Gallinger, S., 2008, “Hereditary colorectal cancer syndromes: familial adenomatous polyposis and lynch syndrome”, *Surg. Clin. North Am.*, 88(4):819–844.
- [100] Lynch, H.T., Lynch, J.F., Lynch, P.M., Attard, T., 2008, “Hereditary colorectal cancer syndromes: molecular genetics, genetic counseling, diagnosis and management”, *Fam. Cancer*, 7(1):27–39.
- [101] O’Connell, J.B., Maggard, M.A., Liu, J.H., 2003, “Rates of colon and rectal cancers are increasing in young adults”, *Am. Surg.*, 69 (10):866–872.
- [102] Johnson, I.T., Lund, E.K., 2007, “Review article: nutrition, obesity and colorectal cancer”, *Aliment Pharmacol Ther.*, 26(2):161–181.
- [103] Willett, W.C., 2005, “Diet and cancer: an evolving Picture”, *JAMA*, 293(2):233–234.
- [104] Jaramillo, M., Tibiche, C., 2010, “Cancer Genomics to Cancer Biology”, In *Cancer Systems Biology*, Wang E (ed), 12, *CRC Press*, London, 215-232.

- [105] Ward N.L. (1987), The determination of boron in biological materials by neutron irradiation and prompt gamma-ray spectrometry, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 110 ,633–639.
- [106] Sevimli M, (2018) Investigating the effects of boric acid on colon cancer cell lines in in vitro conditions (Doctoral thesis,Suleyman Demirel University, 2018) 157.
- [107] Barkauskaite E, Jankevicius G, Ahel I.(2015), Structures and mechanisms of enzymes employed in the synthesis and degradation of PARP-dependent protein ADP-ribosylation. *Mol Cell* 2015;58:935–46.
- [108] Weaver AN, Yang ES. (2013), Beyond DNA repair: additional functions of PARP-1 in cancer. *Front Oncol*;3:290.
- [109] Peralta-Leal A, Rodríguez-Vargas JM, Aguilar-Quesada R, Rodríguez MI, Linares JL, de Almodóvar MR, Oliver FJ. (2009), PARP inhibitors: New partners in the therapy of cancer and inflammatory diseases. *Free Radic Biol Med*;47(1):13-26
- [110] Folkman J., Angiogenesis, *Annu. Rev. Med.* (2006), 57, 1-18.
- [111] Angela M. Duffy, David J. Bouchier-Hayes, and Judith H. Harmey. (2011), Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Role in Non-Endothelial Cells: Autocrine Signalling by VEGF (p.79).
- [112] Michael I. Koukourakis, Vassilios Limberis, Ioannis Tentes, Emmanuel Kontomanolis, Alexandros Kortsaris, Efthimios Sivridis, Alexandra Giatromanolaki *Cytokine* 53 (2011), Serum VEGF levels and tissue activation of VEGFR2/KDR receptors in patients with breast and gynecologic cancer. 370–375.
- [113] Pedro Villarejo-Campos, David PadillaValverde,Rau’l Martin Martin, Pablo Mene’ndez-Sa’nchez,Teo’filo Cubo- 44 Cintas,Jose Antonio Bondia-Navarro,Jesu’ s Marti’n Ferna’ndez; *Clin Transl Oncol*,(2013), Serum VEGF and VEGF-C values before surgery and after postoperative treatment in gastric cancer. *Apr*;15(4):265-70.
- [114] Tian-Bao Wang, Zhong-Gang Chen, Xiu-Qing Wei, Bo Weiss and Wen-Guang Dong; *ANZ J Surg* 81 (2011), Serum vascular endothelial growth factor-C and lymphoangiogenesis are associated with the lymph node metastasis and prognosis of patients with colorectal cancer. 694–699.
- [115] Yuko Ito, Masa-Aki Shibata, Nabil Eid, Junji Morimoto, and Yoshinori Otsuki; *International Journal of Breast Cancer Volume.* (2011), Lymphangiogenesis and

Axillary Lymph Node Metastases Correlated with VEGF-C Expression in Two Immuno competent Mouse Mammary Carcinoma Models., Article ID 867152, 10 pages.

- [116] Hacıoğlu, C., Kar, F., Kacar, S., Sahintürk, V., Kanbak, G., 2019, “High Concentrations of Boric Acid Trigger Concentration-Dependent Oxidative Stress, Apoptotic Pathways and Morphological Alterations in DU-145 Human Prostate Cancer Cell Line”, *Biological Trace Element Research*, 1-10.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı: ALİ OSMAN ALBAYRAK

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 03.08.1992 / Antakya

Medeni hali : Bekar

e-mail : aosmanalbayrak@outlook.com

### Eğitim

Yüksek Lisans:	Uşak Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik	Halen
Lisans:	Uşak Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik	2017
Lisans:	Celal Bayar Üniversitesi Hemşirelik	2012
Lise:	Necmi Asfuroğlu Anadolu Lisesi	2010

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

Uluslararası Hakemli 2020, Albayrak Ali Osman, Karabağ Çoban Funda, Şelli Mehmet Emrah, Aytuğ Hande, Investigation Of Apoptotic And Antiangiogenic Effects Of Boron In Human Breast Cancer MCF-7 Cells, International Journal Of Modern Pharmaceutical Research

Ulusal Hakemli 2018, Funda Karabağ Çoban, Ali Osman Abayrak, Effect of oleuropein on element distributions in liver of diabetic rats , Uşak Üniversitesi Fen ve Doğa Bilimleri Dergisi