

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİK YÖNTEMLE SENTEZLENMİŞ
NANOPARTİKÜLLERİN KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE
SİTOTOKSİK/APOPTOTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SAMET UÇAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEMMUZ 2019

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİK YÖNTEMLE SENTEZLENMİŞ
NANOPARTİKÜLLERİN KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE
SİTOTOKSİK/APOPTOTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

SAMET UÇAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEMMUZ 2019

Tezin Başlığı :Biyolojik Yöntemle Sentezlenmiş Nanopartiküllerin Kansere Hücreleri Üzerine Sitotoksik/Apoptotik Etkilerinin Araştırılması

Tezi Hazırlayan :SAMET UÇAR

Sınav Tarihi :12/07/2019

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri Üyeleri

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Elif APOHAN**
İnönü Üniversitesi

Prof.Dr. Özfer YEŞİLADA
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Birgül ÖZCAN

Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Biyolojik Yöntemle Sentezlenmiş Nanopartiküllerin Kanser Hücreleri Üzerine Sitotoksik/Apoptotik Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmanın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hemde kaynakçada kuralına uygun olarak gösterildiğini belirtir, bunu onurumla doğrularım.

SAMET UÇAR

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİYOLOJİK YÖNTEMLE SENTEZLENMİŞ NANOPARTİKÜLLERİN KANSER HÜCRELERİ ÜZERİNE SİTOTOKSİK/APOPTOTİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Samet Uçar

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

63+ix sayfa

2019

Danışman: Prof. Dr. Elif Apohan

Kanser, günümüzde kalp hastalıklarından sonra ölüm oranı en yüksek olan hastalıktır. Bu hastalığın tedavisinde radyoterapi, kemoterapi ve immünterapi gibi bir çok tedavi yöntemi kullanılmaktadır. Kanser tedavisinde nanopartiküllerde kullanılmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada, *B. adusta* filtratı ve özütü kullanılarak sentezlenen altın nanopartiküller (AuNP) ve gümüş nanopartiküllerin (AgNP) kanser hücreleri üzerine sitotoksik/apoptotik etkileri araştırılmıştır. Bu nanopartiküllerin akciğer kanseri (A549), kolon kanseri (HCT-116), karaciğer kanseri (Hep3B) kronik myeloid lösemi (K562) hücreleri ve sağlıklı hücre hattı olan akciğer epitel hücreleri (BEAS2B) üzerinde tripan mavisi analizi ve MTT testi kullanılarak sitotoksik/apoptotik etkileri test edilmiştir. Tripan mavisi analizi için 10-300 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlar uygulanmış ve canlılığın %50'nin altına düştüğü konsantrasyon 10-100 µg/mL aralığı olarak belirlenmiştir. Daha sonra ise 10-100 µg/mL aralığındaki konsantrasyonlar uygulanmış 24, 48 ve 72 de IC₅₀ değerleri MTT testi ile belirlenmiştir. MTT testi sonucu belirlenen IC₅₀ değerleri baz alınarak, altın ve gümüş nanopartiküller uygulanmış kanserli ve sağlıklı hücrelerde kaspaz-3 aktivitesi ölçülmüştür.

Bu çalışmanın sonuçları, AuNP ve AgNP'lerin kanser hücre hatları üzerine önemli bir sitotoksik etkisinin olduğunu göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Kanser, altın nanopartikül, gümüş nanopartikül,

kaspaz-3, sitotoksik, apoptoz, nanoteknoloji

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF CYTOTOXIC / APOPTOTIC EFFECTS OF BIOLOGICAL SYNTHESIZED NANOPARTICLES ON CANCER CELLS

Samet Uğur

Inonu University
Institute of Science and Technology

63+ix pages

2019

Supervisor: Prof. Dr. Elif Apohan

Cancer is the disease with the highest mortality rate after heart diseases. Many treatment methods such as radiotherapy, chemotherapy, and immunotherapy are used in the treatment of this disease. With the developing nanotechnology, nanoparticles have been also used in cancer treatment.

In this study, cytotoxic/apoptotic effects of gold nanoparticles and silver nanoparticles synthesized by *B. adusta* filtrate and extract were investigated. The cytotoxic/apoptotic effects of these nanoparticles on lung cancer (A549), colon cancer (HCT-116), liver cancer (Hep3B) chronic myeloid leukemia (K562) cells and healthy cell line lung epithelial cells (BEAS2B), were tested using trypan blue analysis and MTT assay. Concentrations in the range of 10-300 µg/mL were applied for Tripan mavisı analysis and the concentration at which the viability fell below 50% was determined as 10-100 µg/mL. Then, the concentrations of 10-100 µg/mL were applied and IC₅₀ values were determined at 24, 48 and 72 h by MTT test. Based on the IC₅₀ values determined by MTT test, caspase-3 activity of cancerous and healthy cells treated with AuNP and AgNP's were measured.

The results of this study showed that AuNP and AgNP's had a significant cytotoxic effect on the cancer cell lines.

KEYWORDS: Cancer, gold nanoparticle, silver nanoparticle, caspase-3 cytotoxic, apoptosis, nanotechnology

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında desteğini esirgemeyen, defalarca hata yapmama rağmen her defasında hatalarımı düzeltmemde yardımcı olan ve beni yönlendiren, danışmanım Prof. Dr. Elif APOHAN'a;

Bu çalışmada kullanılan nanopartiküllerin sentezini yapan, laboratuvar konusundaki bilgi ve tecrübelerini paylaşarak deneysel çalışmalarda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya;

Öğrenmenin yaşı yoktur diyerek ileri yaşına rağmen benimle yüksek lisansa başlayan, bana mücadele ruhunu yeniden kazandıran, azmi, kararlılığı ve güler yüzüyle benden desteğini esirgemeyen birabi ve hoca olarak gördüğüm; Fen Lisesi Biyoloji Öğretmeni Mustafa UÇKUN'a;

Laboratuvar konusundaki deneyim ve bilgilerini paylaşan, deneysel konularda bana yardımcı olan doktora öğrencisi Özgür YILMAZ'a;

Tez çalışmamda kullandığım nanopartiküllerin üretiminde görev alan, birçok konuda fikir alışverişi yaptığım, her anlamda arkadaş olarak desteğini gördüğüm Eray TATLICI'ya;

Gerek maddi gerekse manevi olarak desteklerini esirgemeyip bu tez çalışmasında yanımda olan, umutsuzluğa düştüğümde sen yaparsın diyerek beni motive eden arkadaşlarım, Fırat ATEŞ'e, Burak GÜÇLÜ'ye, Osman TÜRKYILMAZ'a, Enes ALKOÇ'a, Müslüm İNAL'a, Erdem ÖZTAŞ'a, Tugay CANPOLAT'a, Mustafa DURDU'ya, Ali YILDIZ'a, Muhammed COŞAN'a ve Talip ERTEM'e;

Tüm eğitim hayatım boyunca, biran olsun beni bırakmayan, her zaman yanımda olan ve bana yola devam etme gücünü veren kardeşim, arkadaşım, yoldaşım Sedat UÇAR'a;

Bu tez çalışmasını 116Z336 nolu proje ile destekleyen TÜBİTAK'a;

Uzun yıllar ayrı kalsamda varlıklarını ve desteklerini her daim hissettiğim annem Zuhal UÇAR'a, babam Kadir UÇAR'a ve kız kardeşim Hamiyet UÇAR'a;

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Karsinogenez	3
1.1.1. Karsinogenez modelleri ve aşamaları	4
1.1.1.1. Doğal seçim	4
1.1.1.2. Tümörün oluşumu ve gelişimi	4
1.1.1.3. Tümör ilerlemesi ve metastazı	6
1.1.2. Karsinogenezde doğal etmenler	7
1.1.2.1. Somatik mutasyonlar.....	7
1.1.2.2. Hücre döngüsü	7
1.1.3. Karsinogenezde beslenmenin rolü	8
1.1.3.1. Tümör gelişimi ve gelişiminde çevresel faktörler.....	8
1.1.3.2. Sigara dumanı.....	9
1.1.3.3. UV'ye maruz kalma	10
1.1.3.4. Virüsler.....	10
1.1.4. Kanserin belirgin özellikleri	11
1.1.4.1. Enflamasyon.....	11
1.1.4.2. Anjiogenez	11
1.2. Türlerine Göre Kansere Çeşitleri	12
1.2.1. Akciğer kanseri	12
1.2.2. Kolon kanseri	13
1.2.3. Karaciğer kanseri	13
1.2.4. Kronik miyeloid lösemi	13
1.3. Apoptoz ve Kansere	14
1.3.1. Apoptoz.....	14
1.3.1.1. Kaspaz-3.....	15
1.3.1.2. Apoptozun mekanizması.....	15
1.3.1.3. Kansere tedavisinde apoptoz.....	15
1.4. Kansere Tedavisinde Yeni Yöntemler; Nanoteknoloji ve Nanopartiküller	16

1.4.1. Nanoteknoloji.....	16
1.4.2. Nanopartiküller	16
1.4.3. Nanopartiküllerin kanser tedavisinde kullanımı	17
2. KAYNAK ÖZETLERİ	19
3. MATERYAL VE METOD	23
3.1. Kullanılan Hücre Hatları Ve Nanopartiküller	23
3.2. Hücre Çözme Ve Dondurma	23
3.3. Hücre Pasajlama	24
3.4. Optimizasyon Çalışmaları	24
3.5. Hücre Sayımı	24
3.6. Tripan Mavisi Testi	24
3.7. MTT testi	25
3.8. Kaspaz-3 ve Total Protein Analizi İçin Örneklerin Hazırlanması	26
3.8.1. Total Protein Miktarının Belirlenmesi	26
3.8.2. Kaspaz-3 Analizi.....	26
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	27
4.1. AgNP'lerin Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik Etkisi	27
4.2. AgNP'lerin Hücre Hatları Üzerine IC ₅₀ Değerleri	29
4.3. AuNP'lerin Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik Etkisi	33
4.4. AuNP'lerin Hücre Hatları Üzerine IC ₅₀ Değerleri	38
4.5. Altın ve Gümüş Nanopartiküllerin Kaspaz-3 Aktivitesine Etkisi	45
4.5.1. AuNP'lerin kaspaz-3 aktivitesine etkisi	45
4.5.2. AgNP'lerin kaspaz-3 aktivitesine etkisi	48
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	53
6. KAYNAKLAR	54
7. ÖZGEÇMİŞ	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Erkeklerde görülen kanserlerin yüzde dağılımları (TÜİK,2011-2015).	2
Şekil 1.2. Kadınlarda görülen kanserlerin yüzde dağılımları (TÜİK,2011-2015).....	2
Şekil 1.3. Ölüm nedeni istatistikleri (TÜİK,2011-2015).	3
Şekil 1.4. Bir tümör hücresinde kanser özelliklerinin kazanılmasına katkıda bulunan faktörler.Bu şema, kanserojenezde rol alan kritik ve karmaşık etkileşimlerin sadece bazılarını göstermektedir. (Me) = TSGlerin susturulmasına neden olabilecek gen promotörü metilasyonu. (GF) = reseptörüne bağlanan ve MAPK yolunu aktive eden büyüme faktörü, hücre çoğalmasına neden olur (Joseph Hyndman, 2016).	5
Şekil 1.5. Kanserlerin gelişiminde rol oynayan çevresel faktörler(Joseph Hyndman, 2016).	9
Şekil 1.6. Anjiyogenezde rol alan fizyolojik ve patolojik durumlar (Turgut, 2015)....	12
Şekil 1.7. AuNP'lerin TEM görüntüleri, <i>P. grandiflora</i> 'nın yaprak özü (a, b ve c) ve kök özü (d, e ve f) kullanılarak sentezlenmiştir (Ashokkumar vd. 2016).....	17
Şekil 1.8. Konjuge altın nanopartiküllerin düzensiz yapıdaki endotelial tabakadan tümör tabakaya geçerek burada hücrelerde birikmektedir (Ajnai vd. 2014).	19
Şekil 4.1. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.	27
Şekil 4.2. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	28
Şekil 4.3. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	28
Şekil 4.4. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	29
Şekil 4.5. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi	29
Şekil 4.6. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin A549 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	30
Şekil 4.7. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.	31
Şekil 4.8. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.	31
Şekil 4.9. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.	32
Şekil 4.10. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin K562 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.	32
Şekil 4.11. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	34
Şekil 4.12. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	34
Şekil 4.13. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	35
Şekil 4.14. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	35

Şekil 4.15. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	36
Şekil 4.16. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	36
Şekil 4.17. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	37
Şekil 4.18. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	37
Şekil 4.19. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	38
Şekil 4.20. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.....	38
Şekil 4.21. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	39
Şekil 4.22. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	40
Şekil 4.23. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	40
Şekil 4.24. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	41
Şekil 4.25. <i>B. adusta</i> filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	41
Şekil 4.26. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	43
Şekil 4.27. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	43
Şekil 4.28. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	44
Şekil 4.29. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	44
Şekil 4.30. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri.....	45
Şekil 4.31. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş A549 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.....	46
Şekil 4.32. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş BEAS2B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.....	47
Şekil 4.33. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş HCT-116 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.....	47
Şekil 4.34. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş Hep3B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.....	48
Şekil 4.35. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş K562 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.....	48
Şekil 4.36. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş A549 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.....	50
Şekil 4.37. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş BEAS2B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.....	50

Şekil 4.38. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş HCT-116 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.	51
Şekil 4.39. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş Hep3B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.	51
Şekil 4.40. <i>B. adusta</i> filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş K562 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.	52



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 4.1. <i>B. adusta</i> filtratından elde edilen AgNP'lerin IC ₅₀ değerleri (µg/mL) ..	33
Çizelge 4.2. Cisplatinin IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	33
Çizelge 4.3. İmatinibin K562 hücreleri üzerine IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	33
Çizelge 4.4. <i>B. adusta</i> filtratından elde edilen AuNP'lerin IC ₅₀ değerleri (µg/mL) .	42
Çizelge 4.5. <i>B. adusta</i> özütü ile elde edilen AuNP'lerin IC ₅₀ değerleri (µg/mL)	45



SİMGELER VE KISALTMALAR

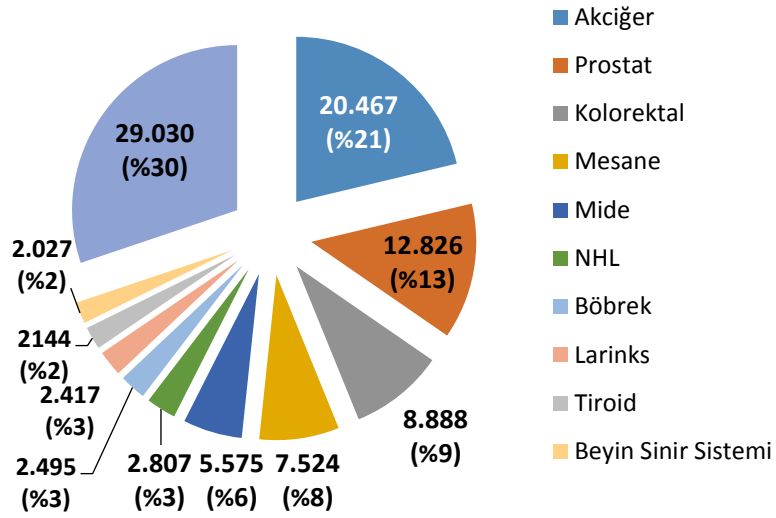
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre dalgaboyu
rpm	Dakikada dönme hızı
dk	Dakika
IC ₅₀	%50 azalmaya neden olan inhibitör konsantrasyonu
°C	Santigrat derece
CO ₂	Karbondioksit
µL	Mikrolitre
µg	Mikrogram
PBS	Fosfat tamponlu salin
DMSO	Dimetilsülfoksit
FBS	Fetal sığır serumu
AuNP	Altın Nanopartikül
AgNP	Gümüş Nanopartikül

1. GİRİŞ

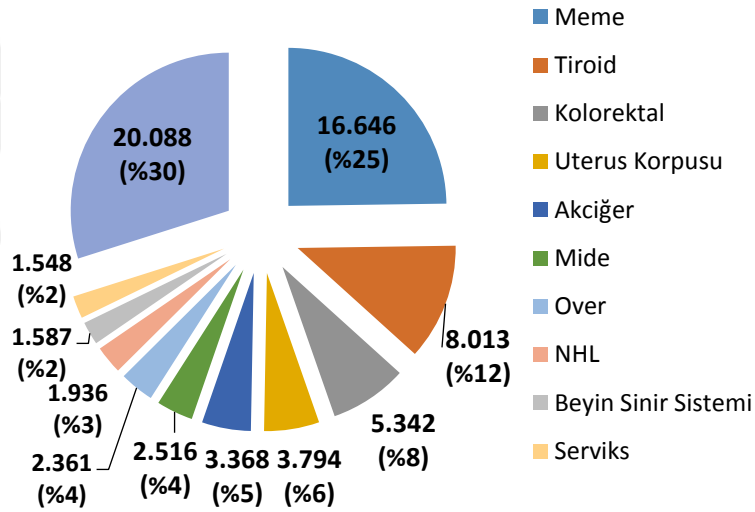
Kanser, hücrelerin DNA'sında meydana gelen hasar sonucu hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalmasıdır. Kanser terimi ilk olarak, tıbbın babası olarak bilinen Yunan bilim adamı Hippocrates tarafından ortaya atılmıştır. Hippocrates carcinos ve carcinoma terimlerini ülser oluşturan ve ülser oluşturmayan tümörler için kullanmıştır (Reiser, 2003).

Kanser, son yıllarda görülme sıklığı ve ölüm oranı en fazla olan hastalıktır. Bugün birçok ülkede kardiyovasküler hastalıklardan sonra ölüm oranı olarak 2. sırayı almıştır (Haydaroğlu, 2007). Cenevre'de merkezi bulunan Birleşmiş Milletler Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 yılında, her yıl milyonlarca kişinin hayatını kaybetmesine neden olan ve aslında bir çoğu önlenebilecek bu hastalıkla ilgili bir rapor yayımlanmıştır. Raporda, 'Dünya'da her yıl 14 milyon insana kanser teşhisi konuyor. Bu rakamın 2030 yılında 21 milyona çıkması bekleniyor' uyarısı yapılmıştır. DSÖ verilerine göre, dünyada kanser sebebiyle hayatını kaybedenlerin sayısı 2000 yılı ile karşılaştırıldığında, yüzde 27,5 artış göstermiş ve 8,8 milyona çıkmıştır. DSÖ verilerine göre, Türkiye'de 2000 yılında 89 bin kişi kanser nedeniyle hayatını kaybederken, 2015 yılında bu rakam 103 bine yükselmiştir. Türkiye'de kanser nedeniyle ölenlerin sayısı 2000 yılı ile karşılaştırıldığında, yüzde 16 artış göstermiştir. Türkiye'de bir yılda 163.500 yeni kanser teşhisi konmaktadır. Bir günde, yaklaşık 450 kişiye kanser teşhisi konulmaktadır.

Erkeklerde en sık görülen kanser türleri akciğer ve prostat kanseridir (Şekil 1.1). Kadınlarda en fazla gözlenen kanser ise meme kanseridir. Yılda yaklaşık 17.000 kadına meme kanseri teşhisi konulmaktadır (Şekil 1.2). Hem erkek hem de kadınlarda bağırsak (kolorektal) kanseri üçüncü sırada görülen kanser türüdür. Çocukluk çağı kanserlerinde ise lösemi en sık görülen kanserdir. İkinci olarak ise ülkemizde lenf bezi kaynaklı kanser görülmektedir. Kemikte, deride, gözde ve karaciğerde görülen tümörler ise daha nadirdir.

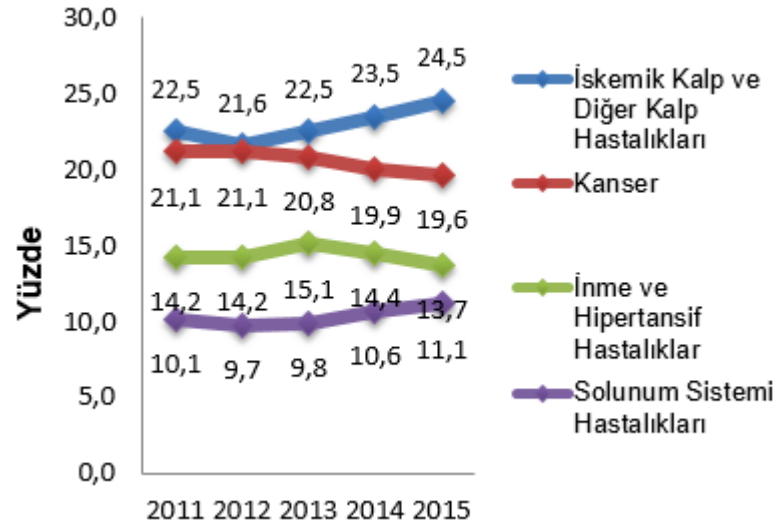


Şekil 1.1. Erkeklerde görülen kanserlerin yüzde dağılımları (TÜİK, 2011-2015).



Şekil 1.2. Kadınlarda görülen kanserlerin yüzde dağılımları (TÜİK, 2011-2015).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre, kanserden kaynaklı ölüm oranı diğerleri ile kıyaslandığında %20 olduğu görülmüştür (Şekil 1.3). Kanser, 2015 yılında 49.946 erkeğin, 27.022 kadının ölümüne neden olmuştur. Erkeklerde 20.388 kişinin gırtlak, soluk borusu, akciğer ve bronşların kötü huylu tümörleri ölüme neden olurken, meme kanseri, kadınlarda 3.853 kişi sayısı ile en yüksek ölüme neden olan kanser olmuştur.



Şekil 1.3. Ölüm nedeni istatistikleri (TUIK, 2011-2015).

Sağlıklı hücrelerin belli bir bölünme hızı ve sınırı varken kanserleşen hücrelerin bölünme sınırı yoktur. Sağlıklı hücreler bu bölünme özelliklerini ölen hücrelerin yerine yeni hücreleri oluşturmak ve yaralanan dokuların onarılmasını sağlamak amacıyla kullanırlar. Ancak kanserleşen hücreler bu amacın dışında çoğalırlar. Anormal çoğalan bu hücreler kısa zamanda bulundukları doku ve organları işgal ederek tümörlerin oluşumuna neden olurlar. Kanser hücreleri tümör oluşumunun yanı sıra kan veya lenf dolaşımına girerek diğer doku ve organlara gidebilirler. Gittikleri yerlerde de tümör oluşturup çoğalmaya devam ederler(Dellabona vd. 1999).

Kanser tedavisinde ölüm oranını azaltmak ve sağkalımı arttırmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Kanser tedavisinde uygulanacak yöntemler kanserin türüne, hastanın özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Bu tedavi yöntemleri genel olarak, cerrahi, radyoterapi, kemoterapi, hormon tedavisi ve yeni tedavi yöntemlerinden immunoterapi, sinyal ileti sistemi inhibitörleri, gen tedavisi ve anjiyogenez inhibitörleri sayılabilir (Terrero ve Li, 2004).

1.1. Karsinogenez

Kanser genetiğe bağlı gelişen bir hastalıktır. Kanser gelişimiyle alakalı farklı teoriler olmasının yanı sıra, hücreler, karsinogenez sürecinde genetik olarak meydana gelen değişikliklerin ve çevresel faktörlerin etkisiyle bazı temel özellikler kazanır. Kanser hastalığının ortaya çıkabilmesi için tümör hücrelerinde mutlaka bulunması gereken özellikler başlıca otonomi(bağımsız çoğalabilme), kontrolsüz çoğalma (kontak inhibisyon kaybı), apoptozisin baskılanması, anjiyogenez, ölümsüzlük ve

metastaz yeteneğidir. Bu özellikleresahip olan hücreler kanser hastalığını meydana getirir (Akbulut vd. 2005).

Karsinogenez sürecinde meydana gelen genetikdeğişiklikler genel olarak; genomik dayanıksızlık, kromozomda parça kaybı, kromozomlarınyeniden düzenlenmesi veya insan kromozomlarının lokuslarına yabancı DNA dizilerinin (genellikle viral DNA dizileri) yerleşmesi özet olarak ifade edilebilir (Fışkın, 2002).Çevresel faktörler olarak iseradyasyon, beslenme alışkanlıkları, mesleğe bağlı olarak bazıajanlara maruz kalma (örneğin akciğer kanserinde asbestoz, arsenikilişkisi, lösemi de benzen ilişkisi) gibi örnekler verilebilir (Fışkın, 2002;Bilir, 2007).

1.1.1. Karsinogenez modelleri ve aşamaları

Kanseri oluşturan birçok etken vardır. Bu etkenlerden biri yaşam şekilleri, yaş, cinsiyet ve aile öyküsü, diğeri ise çevresel faktörler, sigara/alkol kullanımı, uzun süre ve tehlikeli saatlerde güneş altında kalma, aşırı dozda röntgen ışınına maruz kalma, kimyasal maddeler, virüsler, hava kirliliği ve kötü beslenme alışkanlığı olarak sınıflandırılabilir (Reiser, 2003).

1.1.1.1. Doğal seçim

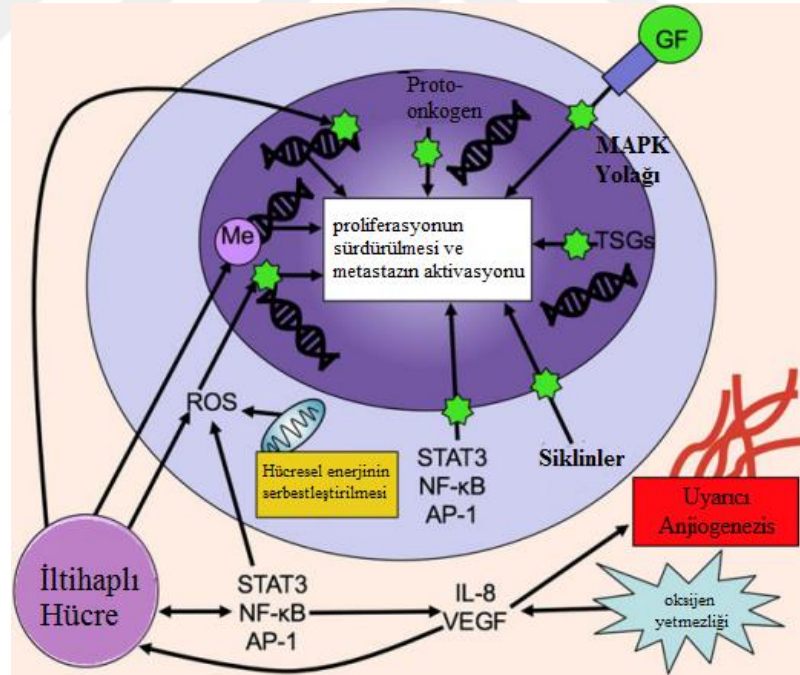
Karsinogenez sırasında bir hücre bir dizi genetik mutasyon kazanır. Mutasyona uğramış hücrenin kansere yol açtığı süreç sıklıkla Darwin'in evrim teorisiyle karşılaştırılır. Böylece çoğaltılmış çoğaltma ve yaşama kabiliyetine sahip mutasyonlara sahip hücreler hayatta kalmak için “seçilir”. Özerklik kazandırmak için yeterli mutasyon elde eden seçilmiş hücreler, malign tümörler oluşturabilir. Ek olarak, sınırlı sayıda mutasyon elde eden hücreler, iyi huylu tümörler olabilirler. Bir hücrenin edindiği somatik mutasyonların sayısı arttıkça, tümör oluşum olasılığı da artar (Stratton vd. 2009).

1.1.1.2. Tümörün oluşumu ve gelişimi

Tümör oluşumu ve ilerlemesinin, değişken bir zaman periyodunda meydana gelen aşamalı bir işlem olduğu bilinmektedir (Weinstein, 1988). Tümör oluşumu kendiliğinden ortaya çıkabilir veya endojen veya eksojen bir mutajen (sırasıyla reaktif oksijen türleri veya tütün dumanı gibi) neden olabilir. Örneğin; deri kanseri oluşumunda, başlangıç ajanları arasında çevresel kimyasal karsinojenler ve UV ışığı bulunur (Weinberg, 2014; Hoffman vd. 1983).

Başlatıcı ajanlar DNA'ya zarar verebilir ve bu nedenle proto-onkogenleri (*KRAS* gibi) aktive edebilir ve *TP53* gibi tümör baskılayıcı genleri (*TSG*'ler) etkisiz hale getirebilir. Bununla birlikte, başlatıcı ajanlar kendi başına bir kansere yol açmayacaktır, teşvik edici bir ajana ihtiyaç vardır. Bir promotör, izolasyonda kanserojen etkiye sahip olmayan veya hiç etkisi olmayan ancak başlangıç faktöründen sonra uygulandığında tümör büyümesini destekleyebilen bir bileşiktir (Rundhaug ve Fischer, 2010).

Tümör başlatıcıların ve promotörlerin rolünü tanımlamak için kullanılan klasik model, kimyasal karsinogenezin fare derisi modelidir. Bu modelde, 7,12-dimetilbenz [a] -antrasen'in (DMBA; katranın bir bileşeni) tek bir düşük dozaj uygulaması ve ardından destekleyici 12-O-forbol 12-miristat 13-asetat (TPA) ile muamele edilmesi cilt karsinomlarının oluşumunu tetiklemektedir. TPA, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolunu aktive eden Protein Kinaz C (PKC) ile etkileşime girer. MAPK yolunun aktivasyonu hücre proliferasyonunu takip eder (Şekil 1.4) (Weinberg, 2014; Marquardt vd. 1994).



Şekil 1.4. Bir tümör hücresinde kanser özelliklerinin kazanılmasına katkıda bulunan faktörler. Bu şema, kanserogenezde rol alan kritik ve karmaşık etkileşimlerin sadece bazılarını göstermektedir. (Me) = TSG'lerin susturulmasına neden olabilecek gen promotörü metilasyonu. (GF) = reseptörüne bağlanan ve MAPK yolunu aktive eden büyüme faktörü, hücre çoğalmasına neden olur (Joseph Hyndman, 2016).

Fare derisi modeli o zamandan beri, genlerdeki kusurları incelemek ve tümör gelişiminin farklı aşamalarındaki sinyal yollarını kullanmak için kullanılmıştır. Tümör teşviki ayrıca enflamatuar sitokinler tarafından da oluşturulur. Bu mekanizma ilk olarak fare kolon, cilt ve karaciğer kanseri modelleriyle gösterilmiştir.

Sitokinler transkripsiyon faktörlerini aktive eder (STAT3, NF- κ B ve AP-1 gibi) bu da anahtar proliferasyon ve sağkalım genlerinin transkripsiyonunu teşvik eder (Şekil 1.4) (Grivennikov vd. 2010).

1.1.1.3. Tümör ilerlemesi ve metastazı

Tümör progresyonu ve metastazı, gen ekspresyonundaki değişiklikler gibi daha ileri genetik değişikliklerin bir sonucu olarak ortaya çıkar (Rundhaug ve Fischer, 2010). "Metastatik kaskad", kanser hücrelerinin birincil konumlarından uzak bir bölgeye yayılmasıyla sonuçlanan süreci ifade eder. Bu adımlar; proliferasyon, anjiyogenez, ayrılma/lokal istila, dolaşımdaki giriş ve çıkış (sırasıyla intravasasyon ve ekstrasvazasyon) ve uzaktaki bir bölgede büyümedir (Fidler, 2003).

Bir hücrenin yerel olarak bir bölgeyi işgal etmesi ve ardından metastaz yapması için, önce ona daha invazif (girişim) bir fenotip veren değişiklikler yapması gerekir. Bu değişiklikler arasında proteazların düzenlenmesi (hücrenin, hücre dışı matris ve bazal membran gibi yapılar yoluyla istila edilmesine izin verebilen) ve hücreden hücreye yapışma moleküllerinin aşağı regülasyonu (hücreye daha büyük bir hareketlilik derecesi sağlar) bulunur (Friedl ve Alexander, 2011).

Metastazın sıklığı, metastatik birikintilerin primer tümör içindeki nadir hücrelerden kaynaklandığını göstermektedir. Bu hücreler insan vücudundaki uzak bölgeleri başarıyla kolonileştirme yeteneğine sahiptir. Bu kavram 'Bmetastatik verimsizlik' olarak adlandırılır.

Bazı araştırmacılar, özellikle metastazda rol oynayan genleri bulmak için çalışmalar yapmaktadır. Bununla birlikte, bu genlerin bulunmadığı ve bunun yerine metastazın iyi bilinen TSG ve onkogenlerdeki mutasyonların bir sonucu olarak ortaya çıktığı da ileri sürülmüştür. Farklı kanserler arasındaki (ve farklı hastalarda aynı kanser arasındaki) heterojenlik, her iki teorisinin de gerçek olabileceği anlamına gelir. (Bernards ve Weinberg, 2002).

1.1.2. Karsinogenezde doğal etmenler

1.1.2.1. Somatik mutasyonlar

Kanser oluşumuna neden olan somatik mutasyonların, endojen ve eksojen faktörlerin neden olduğu hasardan kaynaklandığı bilinmektedir. Bir kanser hücresindeki mutasyonlar, ortaya çıkan DNA dizi değişiminin doğası gereği sınıflandırılır. Bu değişiklikler, kısa bir DNA segmentinin yerleştirilmesi, yer değiştirmesi ve silinmesi gibi nispeten küçük olabilir veya normal diploid hücrelerde bulunan kromozom sayısındaki bir artış veya azalma gibi daha büyük değişiklikler de olabilir (Stratton vd. 2009).

Bir kanser hücresi içindeki somatik mutasyonlar, sürücü veya yolcu mutasyonları olarak sınıflandırılabilir. Sürücü mutasyonları bir hücreye seçici bir büyüme avantajı sunar. Yolcu mutasyonları bir büyüme avantajı sunmaz, fakat bir sürücü mutasyonunun edinilmesi sırasında hücrede bulunurdu. Sürücü mutasyonlarının bir kanser içindeki toplam mutasyon sayısının sadece küçük bir kısmını temsil ettiği düşünülmektedir (Bozic vd. 2010).

Çoğu kanserin birden fazla sürücü mutasyonuna sahip olması ve bu sayının farklı kanserler arasında değişmesi muhtemeldir. Meme, prostat ve kolorektal gibi bazı katı tümörlerin oluşması için 5-7 sürücü mutasyonunun gerekli olduğu öne sürülmüştür (Stratton, 2009). Küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde, örneğin, *ALK*, *EGFR*, *HER2*, *BRAF*, *KRAS*, *MET*, *PIK3CA*, *MAP2K1* ve *AKT1*'deki mutasyonlar dahil birçok sürücü mutasyonu tanımlanmıştır (Pao ve Girard, 2011).

1.1.2.2. Hücre döngüsü

Hücre döngüsü, bir hücrenin çoğalması için ilerlemesi gereken adımlar dizisidir. Birkaç önemli kontrol noktası tarafından sıkıca kontrol edilir. Bu kontrol noktaları, DNA hasarı, hücre büyüklüğü ve hücre dışı büyüme sinyallerini değerlendirir ve hasarlı DNA'nın, olası yardımcı hücrelere geçmemesini sağlar. Herhangi bir anormallik tespit edilirse, hasar onarılncaya kadar hücre G1 veya G2 kontrol noktalarında bekletilir.

Siklinler ve sikline bağımlı kinazlar (CDK'lar), hücre döngüsü boyunca ilerlemeyi yöneten anahtar düzenleyicilerdir. Ya siklinlerdeki ya da CDK'lardaki mutasyonlar, mutasyona uğramış bir hücrenin (bir kontrol noktasında tutulması gereken) hücre döngüsü boyunca devam etmesine izin vererek, hasarlı DNA'ya sahip iki hücrenin oluşumuna yol açabilir (Park ve Lee, 2003). Bu, tümör oluşumunda önemli bir adımdır.

Tümör baskılayıcı protein p53, hücre döngüsü tutuklamasını indükleyebilir. p53 ayrıca DNA, yaşlanma ve apoptozun tamirinde de rol oynar. p53'ün etkisizleştirilmesi, bir hücre içerisinde tümör baskılama aktivitesinin kaybına ve birçok kanserde görüldüğü gibi hayatta kalma ve büyüme yeteneklerinin kazanılmasına neden olur. Kontrol noktaları ve büyüme önleyici sinyallerden kaçınma yoluyla kontrolsüz ilerleme genomik dengesizliğe yol açar ve metastaz olasılığına katkıda bulunur (Rivlin, 2011).

TP53 (p53'ü kodlayan gen) geninin sadece bir alelindeki bir mutasyon, normal p53 proteininin fonksiyon kaybı için yeterlidir. Böylece, p53 mutasyonları baskın bir negatif şekilde hareket etme kabiliyetine sahiptir. Onkogenlerin (Ras gibi), anormal bir etkinin gözlenmesi için etkilenecek sadece bir alele ihtiyaç vardır (dominant fonksiyon kazancı) (Hanahan ve Weinberg, 2000). Onkogenler; protoonkogenlerin mutasyonu, gen amplifikasyonu veya kromozomal yeniden düzenleme gibi üç yoldan biriyle değiştirildiğinde aktive olurlar. Protoonkogenler normal hücre büyümesinde, farklılaşmasında ve hayatta kalmasında rol oynayan proteinleri kodlar. Onkogenlerin aktivasyonu genellikle; artan, düzenlenmemiş aktiviteye sahip bir mutant protein üretimine yol açar (Kufe vd. 2003).

1.1.3. Karsinogeneze beslenmenin rolü

1.1.3.1. Tümör gelişimi ve gelişiminde çevresel faktörler

Tıbbi bağlamda, çevresel riskler; diyet, yaşam tarzı ve enfeksiyonlar gibi tüm genetik olmayan riskleri içerir. Sir Percivall Pott; ilk olarak çevresel kanserojenlerin 18. yüzyılda kansere neden olabileceğini fark ettiğinden bu yana (skrotumun skuamöz hücreli karsinomasının sebebi olarak; baca kurumu), birçok başka çevresel faktörün kanser gelişiminde rol oynadığı tespit edildi. Bu eksojen faktörler, hücre içerisinde kendiliğinden oluşan değişikliklere ek olarak genetik değişikliklere neden olur. Bilinen çevresel mutajenler arasında asbest, arsenik ve radon bulunur (Boffetta ve Nyberg, 2003).

Çevresel faktörlerin erken kanser gelişiminde rol oynadığı ve genomda malign öncesi lezyonlara yol açan değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (Yokota, 2000). Çevresel faktörlerin sonraki karsinogeneze aşamalarındaki rolleri daha az açıklanmaktadır. Bununla birlikte, tümör gelişimi ve ilerleyişinde rol oynayabilecek belli çevresel faktörler vardır.

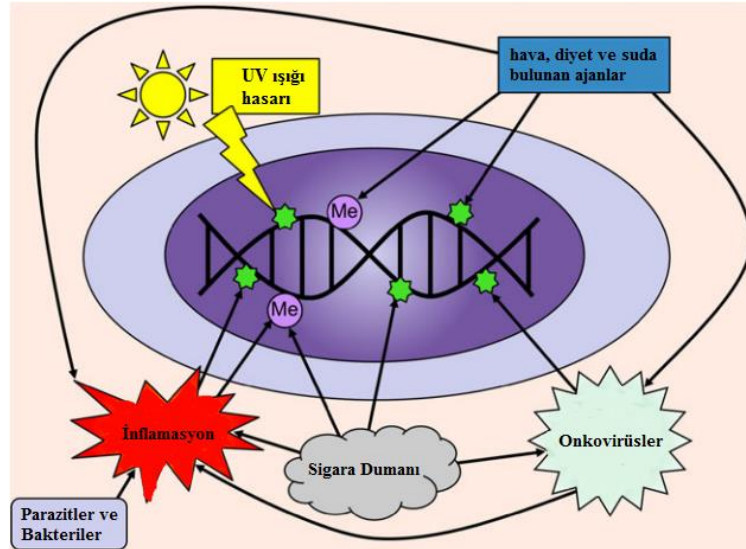
Yakın zamana kadar, çevresel ajanların epigenetik değişimdeki rolü bilinmiyordu. Bununla birlikte, artık harici ajanların epigenetik değişikliklere özellikle gen promotörü metilasyonuna neden olabileceği bilinmektedir.

Epigenetik değişiklikler, birincil DNA dizisinin kendisini değiştirmeden değiştirilmiş gen ekspresyonuna yol açabilen bir hücrenin genomundaki fonksiyonel değişikliklerdir. Tümörü teşvik eden enflamasyon (sigara dumanının neden olduğu gibi) aynı zamanda tümör başlangıcına yol açan epigenetik değişikliklere neden olabilir (Şekil 1.5) (Grivennikov vd. 2010). Bazı diyet faktörlerinin ve şişmanlığın da enflamasyona neden olduğu ve karsinogeneizde rol aldığı bilinmektedir.

1.1.3.2. Sigara dumanı

Sigara ve akciğer kanseri belki de karsinogeneizde çevresel bir faktörün rolünün en iyi bilinen örneğidir. Sigara dumanı ile akciğer kanseri arasındaki bağlantıyı ilk kez 1950’de Sir Richard Doll tarafından ispatlandı (Doll ve Hill, 1950).

Sigara içmek, onkogenlerin aktivasyonu ve proto-onkogenlerin etkisizleştirilmesi yoluyla karsinogeneizde doğrudan rol oynar. Sigara dumanının, karbon monoksit, hidrojen siyanür, amonyak ve vinil klorür dahil çok sayıda toksik ve kanserojen bileşik içerdiği bilinmektedir (Carbone, 1992). Sigara dumanı ayrıca tümörün iltihaplanmalarına katkıda bulunur ve genomda epigenetik değişikliklere neden olabilir (Şekil 1.5) (Grivennikov vd. 2010).



Şekil 1.5. Kanserlerin gelişiminde rol oynayan çevresel faktörler(Joseph Hyndman, 2016).

1.1.3.3. UV'ye maruz kalma

Yoğun ultraviyole (UV) ışığına maruz kalma melanom gelişiminde etkili olmuştur. UV ışınlarının son zamanlarda melanomdaki tüm sürücü mutasyonlarının %46'sına neden olduğu gösterilmiştir. Sigara dumanında olduğu gibi, UV ışığının da kanser gelişimindeki mekanistik rolü geniştir ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesini içerir (Heck vd. 2003).

Bununla birlikte, UV'ye maruz kalmanın ayrıca tümör hücrelerinin sinyalleme yollarının aktivasyonu yoluyla melanom gelişiminde mutajenik olmayan bir rol oynadığı gösterilmiştir. UV'ye maruz kalma ve melanomayı bağdaştıran kanıtlara rağmen, bu bağlantının ardındaki mekanizmalar belirsizliğini korumaktadır (Hodis vd. 2012). Diğer çevresel faktörlerde olduğu gibi, UV maruziyetinin karsinogenezde başlangıç ve ilerleme gibi farklı bir rol oynaması olasıdır (Rundhaug ve Fischer, 2010).

1.1.3.4. Virüsler

Geçtiğimiz yarım yüzyıl boyunca, virüslerin kanserdeki rolü hakkında çok şey keşfedildi ve kansere neden olan virüsler (onkovirüsler) tanımlandı. Bu virüslerin insan tümörlerinin gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynadığı bilinmektedir.

Onkovirüsler etki mekanizmaları bakımından çeşitlilik gösterir ve retrovirüsleri (insan T-lenfropik virüsü-I), RNA virüslerini (hepatit C virüsü) ve DNA virüslerinin çoklu alt tiplerini (Epstein-Barr virüsü ve İnsan papilloma virüsü içeren) içerir (Moore ve Chang, 2010).

HIV (insan bağışıklık yetmezlik virüsü) virüsü, bazı kanserlerin (Kaposi sarkoması gibi) immün sistemi baskılaması yoluyla gelişmesine neden olur; ancak, virüs doğrudan tümör büyümesine neden olmaz (Talbot ve Crawford, 2004).

Virüslere ek olarak parazitlerin ve bakterilerin de kansere neden olduğu bilinmektedir. Örneğin, *Helicobacter pylori* kolonizasyonuna bağlı midede iltihaplanma, mide kanseri için en büyük risk faktörüdür (Polk ve Peek, 2010). Bu bulaşıcı ajanlar (virüsler, parazitler ve bakteriler) ya doğrudan kanserojenler (eksprese edilen viral onkogenler) ya da dolaylı kanserojenlerdir (kronik enflamasyon yoluyla mutasyonlara neden olabilir) (Moore ve Chang, 2010). Bazı viral kanserlerin indüklenmesinde kofaktör olarak etki gösterdiği bilinen aflatoksin

ve sigara gibi diğer çevresel maruziyetlerde vardır (Şekil 1.5) (Talbot ve Crawford,2004).

1.1.4. Kanserin belirgin özellikleri

1.1.4.1. Enflamasyon

Enflamasyon, kanserin anahtar bir işaretidir (Hanahan ve Weinberg, 2011) ve hem çevresel hem de genetik faktörlerin, tümörü destekleyen enflamasyonda rol oynadığı gösterilmiştir. Tümörlerin gelişimi ve ilerlemesi için bir enflamatuar tümör mikro ortamı (TME) gereklidir ve tümörler içinde immün ve enflamatuar hücreler sıklıkla görülür. Tümöre bağlı makrofajlar (TAM'ler) ve T hücreleri, TME'de bulunan en yaygın immün hücreler arasındadır. Bu hücreler sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri dahil olmak üzere çeşitli enflamatuar mediatörler üretir. Bu enflamatuar bileşenler neoanjiyogenez, tümör istilası, metastaz ve DNA'ya daha fazla zarar vermede rol oynar. Ayrıca inflamasyonun mutajenezde doğrudan rol oynayabileceği düşünülmektedir (Grivennikov vd. 2010).

1.1.4.2. Anjiyogenez

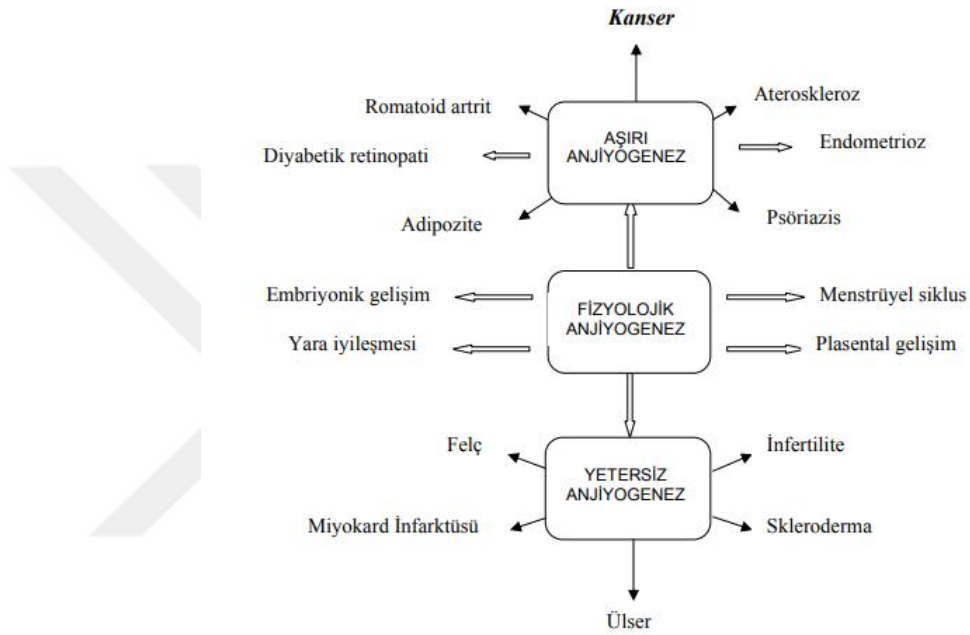
Anjiyogenez, mevcut damar yapılarından yeni kan damarlarının oluşması anlamına gelir (Ribatti, 2004). Fizyolojik durumlarda izlenen anjiyogenez organizmanın bütünlüğünün korunması ve dengenin devam etmesi açısından önem taşırken, tümörlerde izlenen anjiyogenez hastalığın ilerlemesi ve vücuda yayılmasında çok önemli rol oynar (Şekil 1.6) (Konukoğlu ve Turhan, 2005).

Tümörler besinlerini difüzyon yolu ile sağlayarak ancak 1-2 mm çapında küçük hücre popülasyonları şeklinde yaşamlarını sürdürebilirler. Difüzyon yolu ile beslenme daha büyük tümörlerin gelişimi ve bunun sonucunda klinik kanser hastalığı oluşturabilmeleri için yetersiz kalmaktadır. Tümörün büyümesi, yeterli miktarda besin, oksijen, proteolitik enzim ve diğer gerekli elementleri sağlamak için tümör anjiyogenezi adı verilen süreçle yeni kan damarlarının oluşması gerekir (Tobolem, 2007).

Tümör gelişimindeki bir aşamada, bir tümör, kan çekirdeğini “tümörün çekirdeğinde hipoksi ve nekrozla sonuçlandırarak” şekilde yükseltir. Bu koşullar “anjiyojenik anahtar” ı (proanjiyogenik faktörlerin düzenlenmesi ve antianjiyogenik faktörlerin aşağı regülasyonu) yönlendirir. Bu değişiklik yeni kan damarı oluşumunu teşvik eder (neoanjiyonez) ve tümör metastazı olasılığını artırır (Folkman, 2002).

Vasküler endotel büyüme faktörü (*VEGF*), anjiyogenezin birincil aracıdır (Ferrara N, 2005). Bu ajanlar, TAM'leri hem enflamatuvar hem de anjiyojenik mediatörleri ürettikleri nekroz bölgesine toplarlar.

Anjiyogenezi teşvik eden genler (*IL-8* ve *VEGF* gibi), TAM'lar (*AP-1*, *STAT3* ve *NF-κB* gibi) tarafından üretilen transkripsiyon faktörleri tarafından aktive edilir (Grivennikov vd. 2010). Bu enflamatuvar mediatörlerin tümör gelişimi, ilerlemesi ve anjiyogenezde de rol oynamaları muhtemeldir.



Şekil 1.6. Anjiyogenezde rol alan fizyolojik ve patolojik durumlar (Turgut, 2015).

1.2. Türlerine Göre Kansere Çeşitleri

1.2.1. Akciğer kanseri

Akciğer kanseri, erkekler arasında dünya genelinde kansere bağlı ölüm sıralamasında birincidir ve kadınlar arasında ise meme kanserinden sonra gelmektedir (Ahmad veGadgeel, 2016). Son istatistikler; her yıl 1.8 milyon kişiye akciğer kanseri teşhisi konulduğunu ve 1.6 milyon kişinin bu hastalıktan öldüğünü göstermektedir (Ferlay vd. 2012) .

Sadece Avrupa ülkelerinde, her yıl 183.000 kişi akciğer kanserinden ölmekte ve ölüm oranı 32.4/100.000'dir (Malvezzi vd. 2018). Akciğer kanseri erken bir aşamada teşhis edildiğinde, beş yıllık sağkalım oranı % 70-% 90 arasındadır ve geç tanı durumunda bu oran % 12'ye düşer (Goldstraw vd. 2016). Akciğer kanseri, erken evrelerinde, çoğunlukla asemptomatik veya diğer solunum yolu hastalıklarını taklit

eden solunum semptomları ile karakterize olduğu için, akciğer kanseri teşhisi genellikle geç evrelerde ortaya çıkar, bu nedenle hastalığa bağlı ölüm oranları yüksektir (Siegel vd. 2016). Bu nedenle, akciğer kanserinin erken teşhisi mortaliteyi azaltmak ve hayatta kalma oranlarını iyileştirmek için büyük önem taşımaktadır.

1.2.2. Kolon kanseri

Kolon kanserinin temeline bakıldığında kolon mukozasındaki epitel hücrelerinin genetik olarak mutasyona uğraması sonucu ortaya çıkmaktadır. Kolon kanserine sebepolan nedenler arasında genetik yatkınlık, kırmızı et tüketimi, minarel ve vitaminlerin yeterli alınmaması sayılabilir (Skibber vd. 2001).

Kolon kanseri tedavisi genellikle cerrahi yöntemle olmaktadır ancak tedaviden 3-4 yıl sonra tekrar nüks ettiği durumlarda olmaktadır (Doğan vd. 2009). Kolon kanserinin tedavisinde kemoterapetik ajan olarak 5-FU 1957 yılında keşfedildiğinden bu yana hâlâ kullanılmaktadır (Skibber vd. 2001). Buna ek olarak son yıllarda sitotoksik ajan olarak oksaliptatin, irinotekan ve katesitabin, biyolojik ajan olarak ise bevasizumab, cetuximab ve panitumumab tedavi için kullanılmaya başlanmıştır (Zuckerman vd. 2008).

1.2.3. Karaciğer kanseri

Karaciğer kanseri, erkeklerde en sık görülen 5. sıradaki kanser türüdür, kadınlarda ise 7. sırada yer almaktadır. Karaciğer kanserleri içinde, hepatoselüler karsinom (HCC) dünya genelinde toplam karaciğer kanseri sayısının %70 – 85’ini kapsamaktadır. Karaciğer kanserinin nedenleri arasında Hepatit B virüsü (HBV) ve Hepatit C (HCV) virüsü en büyük oranlara sahiptir. Ayrıca gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelere bakıldığında, alkol kullanımı ve obezitenin karaciğer kanserinin temelini oluşturduğu düşünülmektedir (Jemal vd. 2011).

1.2.4. Kronik miyeloid lösemi

Kronik miyeloid lösemi (KML), miyeloid hücrelerinin farklılaşma aşamasında artışı nedeniyle ortaya çıkan bir kök hücre hastalığıdır. İlk tanımlanması 19. yy da olmuştur (Rabinowitz vd. 2004). KML bütün lösemilerin %20’sini oluşturmaktadır. Yıllık insidansı 100 000 kişide 1 oranındadır. Hastalık erkeklerde kadınlardan daha sık görülmektedir ve E/K oranı yaklaşık 1,7/1’dir. Türkiye’de görülme sıklığı bilinmemektedir (Dinçol, 2003).

Hastalıkla ilişkilendirilen bir ajan yoktur ve hastalık genellikle sporadiktir. Hastalıkla ilişkilendirilen tek faktör iyonize radyasyondur. Japonya’da atom bombası patladıktan sonra ortaya çıkan radyasyon nedeniyle KML vakalarında artış gözlemlenmiştir. Diğer çevresel etkenlerin bir etkisi saptanmamıştır (Goldman, 1997; Cecil vd. 2000).

1.3.Apoptoz ve Kanser

1.3.1. Apoptoz

Apoptotik hücre ölümü ilk olarak Kerr ve ark. tarafından 1972 yılında, kromatinin nükleer çevrede yoğunlaşması, nükleer iskele proteinlerinin ayrılması ve apoptotik cisimlerin oluşumu gibi morfolojik kriterlere dayanarak nekrotik hücre ölümünden ayırt edilmiştir. Apoptozun ilk biyokimyasal kanıtı Skalka ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (Skalka vd. 1976). Apoptoz hasar görmüş hücrenin kendi kendini öldürmesidir. Kelime kökenini“apo (ayrılan)-ptosis (düşen)” anlamına gelen Yunancadan almaktadır (Kerr vd. 1972).

Apoptoz, genetik olarak, metabolik bir kaskadı oluşturan bileşenlerin aktive edilmesiyle canlı hücrelerin, hücre ölümüne yol açan bir olaydır (Lockshin ve Williams, 1965; Lockshin ve Zakeri, 2001). Bu olay canlı hücrelerde hem fizyolojik hem de patolojik durumlarda gerçekleşir (Kountouras vd. 2003).

Apoptoz, canlıların hem embriyolojik gelişiminde hem de normal hayatının işleyişinde hücre çoğalması ile denge halindedir. Bu durum doku ve organların gelişmesinden ve şekillenmesinden sorumludur (Sarioğlu ve Ataman, 2003). Embriyolojik olarak gelişmekte olan fetüsün el ve ayak parmakları arasındaki perdelerin ortadan kaldırılması, omuriliğin şekillenmesi gibi durumlarda, yetişkinlerde ise menstrual siklusda endometriyum hücrelerinin yıkılmasında gözlenir (Tomatır, 2003; Özcan, 2003).

Apoptoz, vücuttaki hücre sayısının sabit kalmasında da önemli bir rol oynar. Doku homeostazisinin sağlanması apoptozis ve proliferasyonun denge içinde olmasına bağlıdır. Bu dengenin bozulması bir çok hastalığın kaynağını oluşturmaktadır. Karsinogenezin temelinde de artmış proliferasyon ve azalmış apoptozis olması buna örnektir (Ovalı, 1999).

1.3.1.1. Kaspaz-3

Kaspazlar, apoptoz mekanizmasının çalışmasında rol oynayan sistein-protez grubu enzimlerdir. Kaspazlar ilk defa *C. elegans*'ta keşfedilmişlerdir (Nicholson, 1999). Kaspazlar, apoptozun hem başlatılmasından hem de apoptozisin gerçekleşmesinden sorumludur (Mishra ve Vinayak, 2015). Kaspazlar, hücrenin stoplazmasında iki farklı enzim grubu halinde bulunurlar. Bunlar; başlatıcı kaspazlar ve uygulayıcı kaspazlardır. Bu kaspazların içinde önemli olan kaspaz-3 enzimidir. Hücrede meydana gelen hasar durumunda DNA polimerazın çalışmasını baskılayarak hücrenin apoptoza gitmesinin sağlamaktadır (Aslan, 2011).

1.3.1.2. Apoptozun mekanizması

Mekanizması tamolarak bilinmemekle birlikte apoptoz, hücrenin içinden veya hücrenin dışından gelen sinyallerle başlamaktadır (Green, 1998; Gastman, 2001). Apoptoz mekanizmasının, memeli hücrelerinde tanımlanmış iki yolu bulunmaktadır. Bunlardan ilki hücre zarındaki ölüm reseptörü ile başlatılan apoptoz, diğeri ise mitokondriden salınan sitokrom-c'nin başlattığı kaspaz aktivasyonu ile hücre ölümü olan apoptozdur. Bu yollardan ölüm reseptörü ile ilişkili olana "ekstresek aracılı apoptoz" denir. Kaspazaktivasyonu ile başlatılan ve mitokodri kaynaklı olan diğeri yol ise "intrensek aracılı apoptoz" olarak bilinir (Kaufmann ve Gores, 2000; Reed, 2000).

1.3.1.3. Kanser tedavisinde apoptoz

Kanser tedavisinde kullanılan tedavilerin amacı, DNA hasarına yol açmak ve kanserli hücrelere daha fazla zarar vererek apoptozu tetiklemektir (Whibley vd. 2009).

Kanserin apoptoz yoluyla tedavisi, pro-apoptotik proteinlerin artışı ve anti-apoptotik proteinlerin azalışı temeline dayanmaktadır. Pro-apoptotik proteinlerin başında p53 proteini gelmektedir. İlk p53 gen terapisi, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaları üzerine 1996 yılında yapılmıştır (Roth vd. 1996; Augello vd. 2009). Sadece p53 gen terapisi, tümör hücrelerini yok etmede yeterli olmadığı için diğeri kanser ilaçlarıyla birlikte kullanılması gerektiği düşünülmüştür. Bazı çalışmalar başarılı olmuş olsada henüz FDA tarafından onay almış bir p53 gen terapisi bulunmamaktadır (Suzuki ve Matsubara, 2011).

Diğeri bir pro-apoptotik protein ise kaspazdır. Kaspazın kanser tedavisinde kullanılması için bir çok çalışma yapılmıştır. Apoptin adı verilen ilaç bu amaçla

üretilmiş olup, normal hücrelere etki etmezken kanserli hücrelerde apoptozu tetiklemektedir (Rohn vd. 2004). Kaspaza dayalı gen terapisi, AH130 karaciğer tümörü üzerinde etoposid tedavisinin yanında uygulanmış ve tümörlü hücrelerin küçüldüğü, bunun nedeninin ise apoptozdan kaynaklandığı gösterilmiştir (Yamabe vd. 1999).

1.4. Kanser Tedavisinde Yeni Yöntemler; Nanoteknoloji ve Nanopartiküller

1.4.1. Nanoteknoloji

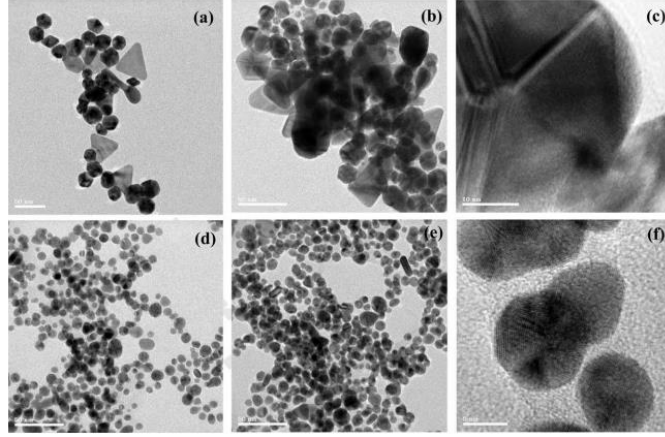
Nanoteknoloji, tek tek atomlardan veya moleküllerden altmikron boyutlarına kadar değişen ölçeklerde fiziksel, kimyasal ve biyolojik sistemlerin üretimini ve uygulanmasını ve ayrıca nano yapıların daha büyük sistemlere entegrasyonunu kapsar (Bhushan, 2010). Nanoteknolojideki bilim ve teknoloji araştırması, malzeme ve üretim, nanoelektronik, tıp ve sağlık bakımı, enerji, biyoteknoloji ve bilgi teknolojisi gibi alanlarda kullanımı hızla artmaktadır (Dahl vd. 2010). Nanobilim, işlenmiş gıda, kimya mühendisliği, hassas mekanik, optik, enerji üretimi ve çevre bilimleri alanlarında geniş kapsamlı uygulamalar sunan, gelişmekte olan çok disiplinli bir alandır (Jopp, 2003). Özellikle, metalik nanoparçacıklar son zamanlarda artan ilgi görmektedir (Chen ve Tsay, 2013).

1.4.2. Nanopartiküller

Nanopartiküller genellikle 1-100 nm aralığında partiküller olarak adlandırılır. Nanopartiküller, dökme malzemenin daha büyük partiküllerine kıyasla tamamen yeni veya geliştirilmiş özellikler sergilerler ve bu yeni özellikler, partiküllerin büyüklüğü, dağılımı ve morfolojisi gibi spesifik özelliklerde meydana gelen değişiklik nedeniyle elde edilir (Knoll ve Keilmann, 1999; Wiley vd. 2007).

Genel olarak, metalik nanoparçacıklar fiziksel ve kimyasal yöntemlerle hazırlanır ve stabilize edilir (Chen vd. 2001; Frattini vd. 2005). Metalik nanoparçacıklar genellikle nanotıpta yaygın olarak kullanılan altın, platin, gümüş ve paladyum gibi kaliteli metallere sentezlenir. Bunlar arasında, altın nanoparçacık, ultra-küçük boyut ve şekil gibi benzersiz fiziko-kimyasal özellikleri nedeniyle birçok uygulama alanına sahiptir (Bhattacharya ve Murkherjee, 2008; Parta vd. 2010). Yinede bu metaller pahalıdır, yüksek basınca, enerjiye ve sıcaklığa ihtiyaç duyarlar ve nanopartiküllerin stabilizasyonu için bazı toksik kimyasalların kullanılmasını içerirler ve tıbbi ve farmasötik uygulamalarda kullanıldıklarında olumsuz etkilere yol açarlar (Goodsell vd. 2004). Bu nedenle, nanopartiküllerin sentezi için çevre dostu bir sürecin geliştirilmesine artan bir ihtiyaç vardır.

Nanopartiküllerin biyolojik sentezi, uygun maliyet, güvenli olmaları ve nanopartiküllerin sentezi veya stabilizasyonu için toksik kimyasallar içermemesi nedeniyle büyük ilgi görmüştür. Biyolojik sentez yöntemleri, bakteri, mantar ve bitkilerin kullanımını içerir (Sathishkumar vd. 2009).



Şekil 1.7. AuNP'lerin TEM görüntüleri, *P. grandiflora*'nın yaprak özü (a, b ve c) ve kök özü (d, e ve f) kullanılarak sentezlenmiştir (Ashokkumar vd. 2016).

Çoğunlukla manyetik nanoparçacıklar (demir oksit), altın nanoparçacıklar, gümüş nanoparçacıklar ve bakır nanoparçacıklar gibi metalik nanoparçacıklar sentezlenmiştir ve spesifik gereksinimleri karşılamak için modifiye edilmiştir (Mody vd. 2010). Metal nanopartikülleri arasında, gümüş nanopartikülleri ve altın nanopartikülleri büyük önem taşımaktadır. Bu nanopartiküllerin, enfeksiyonla mücadele, ilaç sunumu, kataliz (Huang vd. 2012), su arıtma (Das vd. 2012), çevresel atıkların arıtılması (Rastogi vd. 2012), gıda endüstrisi (Costa vd. 2011), tekstil endüstrisi, biyo etiketleme ve kanser tedavisi gibi çok çeşitli uygulamaları mevcuttur (Montazer vd. 2012).

Nanopartiküller hücresel organellerden 10 ila 10.000 kat daha küçüktür. Yüzeydeki ve hücrelerin içindeki biyomoleküllere uyumu, tanısal ve terapötik uygulamalar için faydalıdır. Yüksek yüzey alanlarına, iyi biyouyumluluğa ve ayrıca iyi yüzey işlevselliğine sahiptirler (Camerin vd. 2010; Chen vd. 2008).

1.4.3. Nanopartiküllerin kanser tedavisinde kullanımı

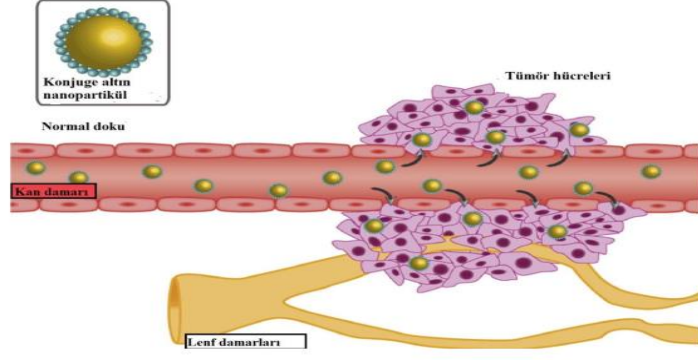
Yeni teknolojilerin gelişmesiyle kanser tedavisinde nanopartiküller önem kazanmıştır. Son zamanlarda kanser nanoteknolojisi, ileri ilaç dağıtım sistemlerine ve kanser hastalığının teşhisi ve tedavisinde veya hasar görmüş doku ve hücrelerin

onarılmasında yeni yollara katkıda bulunabilecek umut verici bir araştırma alanı olarak ortaya çıkmıştır (Zhang vd. 2008).

Avrupa Bilim Vakfı tarafından yapılan bir araştırmaya göre, teşhis ve terapötikler için yeni nanoteknoloji temelli tıbbi araçlar geliştirmek büyük bir yatırıma ihtiyaç duymaktadır (Wagner vd. 2006). İnorganik nanoparçacık bazlı kanser terapötikleri için geçiş metallerinin kullanılması ilgi çekici bir alandır (Farrer vd. 2009). Kanser tedavisi için de artan bir talep vardır (Unno vd. 2005). Nanopartiküllerin *in vitro* sitotoksikite test prosedürleri, kültür doku ve hücrelerinin kullanımını arttırmakta, laboratuvar hayvanlarının kullanımını ise azaltmaktadır (Abraham vd. 2004; Byrd vd. 2000). Nanoparçacıkların nanotıp için ticarileştirilmesi de önemli ölçüde ilerlemektedir (Webster, 2006).

Nanoteknoloji, kanser tedavisinde kullanılan ajanların etkilerini maksimuma çıkarmak ve oluşan yan etkileri minimuma indirmek için kullanılmaktadır (Ajnai vd. 2014). Matsumura ve Maeda tarafından 1986'da yapılan keşiflerden biri de nanopartiküllerin tümör dokusu içine girip burada birikebildiğiydi (Matsumura ve Maeda, 1986). Bu gelişme, araştırmacıları nanopartiküllerin antikanser ilaçların taşınması konusunda araştırma yapmaya teşvik etmişlerdir.

Sağlıklı dokuda, vasküler endotelial tabaka yabancı moleküllerin geçişini engelleyerek bir bariyer görevi görmektedir. Ancak kanserleşen dokuda neovasküler yapı yüksek oranda bozulmuş ve vasküler endotelial tabakası üzerinde geniş boşluklar oluşmuştur. Bu da hücre içinden madde çıkışına ve hücre içine yabancı moleküllerin girişine neden olmaktadır (Ajnai vd. 2014). Normal dokunun çapı yaklaşık 9 nm ve 50 nm porları (50 nm çapındaki porların sayısı 9 nm çapındaki porlardan 100-1000 kat daha azdır.) olan sıkı duvarlara sahiptir. Ancak, kanserli dokular, gevşek kılcal duvarlara sahiptir ve 100 nm'den küçük yabancı partiküllerin geçişine izin verirler. Tümör dokular lenf sisteminden yoksundur. Bu nedenle, nanopartiküller bir kez tümör dokuya nüfuz ettikten sonra kolayca çıkarılamazlar (Tan vd. 2012)



Şekil 1.8. Konjuge altın nanopartiküllerin düzensiz yapıdaki endotelyal tabakadan tümör tabakaya geçerek burada hücrelerde birikmektedir (Ajnai vd. 2014).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ivan ve arkadaşları yaptıkları çalışmada gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) hem meme kanseri (MCF-7) hem de akciğer kanseri (A549) hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkisini tespit etmişlerdir. Sonuçlar, bu çalışma sırasında kullanılan AgNP'lerin, her iki hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin olduğunu göstermiştir. Bu sitotoksik etkinin, canlılığı ve proliferasyonu azalttığı, apoptoz yoluyla hücre ölümünü gerçekleştirdiği saptanmıştır (Mfouo-Tynga vd. 2014).

Cassia auriculata yaprağı ekstresi kullanılarak sentezlenen altın ve gümüş nanopartiküllerin sitotoksitesi ve genotoksitesi farklı kanser hücre hatları üzerinde çalışılmıştır. Sonuç olarak, gümüş nanopartiküllerin, altın nanopartiküllere kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda etkili olduğu tespit edilmiştir (Parveen vd. 2015).

Sargassum vulgare kullanılarak sentezlenen gümüş nanopartiküllerin, kanserli insan miyeloblastik lösemik hücreleri (HL60) ve rahim ağzı kanseri hücreleri (HeLa) üzerine sitotoksitesi Govindaraju ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Bu çalışma sonucu, AgNP'lerin kanser hücrelerine karşı toksisitesinin DNA hasarı ve apoptozis olduğu gösterilmiştir (Govindaraju vd. 2015).

Çeşitli bitki kaynaklarında bulunan bir flavonol olan Kaempferol (3,5,7,4-tetrahidroksiflavon), Bhuvanasree ve arkadaşları tarafından altın nanopartiküllerinin (k-AuNP'ler) oluşumu için kullanılmış ve bu partiküller, antikanser özellikleri bakımından değerlendirilmiştir. K-AuNP'lerin varlığında, MCF-7 meme kanseri hücrelerinin canlılığında doza ve zamana bağlı bir azalma olduğu gözlenmiştir (Bhuvanasree vd. 2015).

Uma Suganya ve arkadaşları *Mimosa pudica*'nın yaprak ekstresini kullanarak altın nanopartikülleri (AuNPs) sentezlemiş ve meme kanseri hücre hatları üzerine sitotoksik etkisini araştırmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin kanser hücrelerinin öldürülmesinde etkili olduğu çeşitli sitotoksik testler kullanılarak tespit edilmiştir (Uma Suganya vd. 2016).

Ashokkumar ve arkadaşları, *Portulaca grandiflora*'nın yaprak ve gövdesini kullanarak altın nanopartiküller sentezlemiş ve bunların karakterizasyonunu ve stabilizasyonunu yapmışlardır. SEM ve TEM görüntüleri, küresel, eşkenar dörtgen, üçgen, dörtgen, beşgen, çubuk ve altıgen şekilli 8 ve 72 nm boyutunda altın

nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamışlardır. Sentezlenen altın nanopartiküllerin antiproliferatif etkileri, C6 glioma insan kanser hücreleri üzerinde değerlendirilmiştir. Altın nanopartiküllerin C6 glioma hücre hattı üzerine IC₅₀ değeri belirlemek için 25-250 mg/mL arasındaki konsantrasyonlar uygulanmıştır. IC₅₀ değerinin 150 mg/mL olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar, C6 glioma hücre canlılığını % 50'ye kadar azalttığını göstermiştir (Ashokkumar vd. 2016).

Cassia roxburghii'nin sulu yaprak ekstraktından elde edilen altın klorür ve fitosentezlenmiş altın nanopartiküllerin Afrika yeşil maymun normal böbrek Vero hücre hattı ve HepG2, MCF-7 ve HeLa gibi üç farklı kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. *In vitro* çalışmalarda *Cassia roxburghii*'dan elde edilen AuNPs'lerin normal hücre hatlarına sınırlı sitotoksik etki gösterirken kanserli hücrelere güçlü sitotoksik etkisinin olduğu belirlenmiştir (Balashanmugam ve Durai, 2016).

Sreekanth ve arkadaşları tarafından *Saccharina japonica* özütü kullanılarak gümüş nanopartiküller (AgNPs) sentezlenmiş ve servikal karsinoma hücreleri üzerine sitotoksik etkileri incelenmiştir. Biyosentezlenen AgNP'lerin küresel şekilli olduğunu ve bu NP'lere maruz kalan HeLa hücrelerinde, yuvarlama ve yapışma kaybı dahil olmak üzere morfolojik değişikliklere uğradığı gözlemlenmiştir. Floresans ve konfokal lazer tarama mikroskopisi kullanarak yaptıkları analizlerde, nükleer hacimde azalma ve sitoplazma yoğunlaşması gibi karakteristik apoptotik özelliklerin kanserli hücrelerde olduğu gözlemlenmiştir (Sreekanth vd. 2016).

Baicalin (BC), anti-kanser ilacı olarak birçok etkisinden dolayı kanser terapisinde kullanılmıştır. Bununla birlikte, bu molekülün hedef hücrelere etkili bir şekilde verilmesi zordur. Donghyun ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada tiyolasyonlu beta siklodekstrin (AuNP-S- β -CD) ile konjuge edilmiş altın nanopartikülleri (AuNPs) bir dağıtım vektörü olarak kullanılmış ve MCF-7 kanser hücreleri üzerinde test etmişlerdir. Hücre canlılığı testleri, hücre sayma kiti-8 (CCK) ve canlı / ölü hücre deneyi ile değerlendirilmiştir. Inklüzyon kompleksi tarafından yüklenen yaklaşık 40 μ M BC içeren AuNP-S- β -CD, apoptozu indükleyerek MCF-7 hücre ölümünü arttırdığı, kaspaz-3 aktivite ölçümüyle değerlendirilmiştir (Lee vd. 2016).

Abutilon indicum yaprak ekstraktından *Abutilon indicum* gold nanopartiküllerini (AIGNPs) sentezlenmiş ve kolon kanseri hücrelerinde sitotoksik etkisi araştırılmıştır. AIGNP'lerin, HT-29 kolon kanseri hücreleri üzerine 24 ve 48 saat sonra IC₅₀ değerleri sırasıyla 210 ve 180 g/mL olarak hesaplanmıştır. AIGNP'lerin gözlenen sitotoksitesinin mekanizması, artan reaktif oksijen türleri seviyeleri ve hücresel antioksidanlarda eşzamanlı azalma ile açıklanmıştır. Ayrıca, mitokondriyal membran potansiyel kaybına, DNA hasarına ve G1/S faz hücre döngüsü durmasına neden olmuş olabileceği düşünülmüştür (Mata vd. 2016).

Sandhanasamy ve arkadaşları tarafından *Pimpinella anisum* çekirdeği ekstresi kullanılarak gümüş nanopartiküllerin (AgNP'ler) sentezini ve kolorektal kanser (CRC) hücre hatları üzerindeki sitotoksiteleri değerlendirilmiştir. AgNP'ler, kolorektal adenokarsinomlu (CRC) hücrelerinde yüksek sitotoksite göstermiştir. Araştırmacılar seçici olarak proliferasyonun baskılanması, G2/M fazında hücre döngüsü durması ve apoptozun indüklenmesi yoluyla kanser hücrelerini öldürdüğünü tespit etmişlerdir (Devanesan vd. 2017).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Hücre Hatları Ve Nanopartiküller

Bu çalışmada, akciğer kanseri (A549), kolon kanseri (HCT-116), karaciğer kanseri (Hep3B) kronik myeloid lösemi (K562) hücreleri ve sağlıklı hücre hattı olan akciğer epitel hücreleri (BEAS2B) kullanılmıştır. Hücreler, %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 oranında penisilin ve streptomisin içeren RPMI ve DMEM ortamında %5'lik CO₂ içeren nemli atmosferde, 37°C'de inkübe edilerek çoğaltılmış ve devamlılığı sağlanmıştır. Hücrelerin hem yapılacak deneyler için gerekli sayıya ulaşması için hemde devamlılığının sağlanması için uygun zaman aralıklarında pasajlama işlemi yapılmıştır.

Kurulacak deney için yeterli sayıda hücre elde edildiğinde, hücreler toplanıp santrifüj edilmiş ve süpernatant atılarak peletin üzerine 10 mL taze besiyeri eklenmiştir. Sonrasında uygulanacak analize göre seçilmiş platelere uygun sayıda hücreler eklenerek aynı koşullarda 24 saat inkübe edilerek hücrelerin platelere yapışması sağlanmıştır. Hücreler platelere yapıştıktan sonra, kronik myeloid lösemi hücreleri ise platelere eklendiği gün sentezi yapılan nanopartiküllerle muamele edilmiştir.

Bu çalışmada TÜBİTAK tarafından desteklenen 116Z336 nolu proje kapsamında üretilmiş olan altın nanopartiküller (AuNPs) ve gümüş nanopartiküller (AgNPs) kullanılmıştır.

3.2. Hücre Çözme Ve Dondurma

Hücreler, -80 °C'den çıkartılıp 37°C'ye ayarlanan su banyosunda hızla çözündürülmüştür. Çözündürülen hücreler besiyeri ile dilüe edilip 1000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Ardından süpernatant atılıp pellet steril flask içerisinde taze besiyeri ile süspanse edilerek 37°C'de %5'lik CO₂'li inkübatörde inkübe edilmiştir.

Hücreler pasajlanırken, bir kısım hücrelerin canlılığı devam ettirilirken bir kısmı ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere dondurularak saklanmıştır. İnkübe edilen hücreler dondurulma işlemi için toplanıp santrifüj edilmiştir. Bu aşamadan sonra süpernatant atılıp üzerine hücre dondurma solüsyonu (FBS %90, DMSO (Dimetilsülfoksit) %10) ilave edilmiştir. Hücre dondurma solüsyonu pellet miktarına bağlı olarak hazırlanmıştır. Yaklaşık olarak her krio tüpte $5 \times 10^6 - 2 \times 10^7$ hücre/mL

olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu karışımdan 1'er mL alınıp, krio tüplere aktarılmış ve -80 °C'de saklanmıştır (Murugaraj vd. 2013).

3.3. Hücre Pasajlama

Pasajlama için gerekli olan besiyeri ve tripsin 37 °C'ye ayarlı su banyosuna alınmıştır. İnkübatörden çıkartılan hücreler laminar kabin içerisine alınıp flask içerisindeki besiyeri atık kabına atılmış ve tripsin eklenmiştir. Tripsin yardımıyla kaldırılıp toplanan hücreler santrifüj edilmiş ve süpernatant atılarak üzerine taze besiyeri eklenmiştir. Bu işlemden sonra hücreler tekrar 37 °C'de %5'lik CO₂'li inkübatörde inkübe edilmiştir (Murugaraj vd. 2013).

3.4. Optimizasyon Çalışmaları

Sentezi yapılan nanopartiküller, kanser hücreleri ile farklı konsantrasyonlarda muamele edilerek (5-300 µg/mL) komplekslerin konsantrasyon optimizasyonu yapılmıştır. Optimum maruz kalma süresinin belirlenmesi için, yapılacak olan çalışmalarda nanopartiküller ile hücreler farklı sürelerde (24, 48 ve 72 saat) muamele edilmiştir. Aynı deneyler akciğer kanserinin ticari ilacı olan cisplatin, löseminin ticari ilacı olan imatinib ve sağlıklı hücre hattı ile de tekrar edilmiştir. MTT ve tripan mavisi analizleri yapılarak kanser hücreleri üzerinde; nanopartiküllerin, cisplatinin ve imatinibin optimum konsantrasyon ve maruz kalma süresi belirlenmiştir.

3.5. Hücre Sayımı

Hücre kültürü çalışmaları belirli bir hücre sayısı ile başlatıldığı için deney kurulmadan önce total canlı hücre sayısı yaklaşık olarak hesaplanmalıdır. Bu işlem için tripan mavisi boyası ve hemositometre kullanılmıştır. Hemositometre, temelde lam üzerinde çizgi ile işaretlenmiş 1 mm karelerden ve onların içendeki daha küçük karelerden oluşmaktadır. Hücre solüsyonları bu karelerin üzerini kapladığında ışık mikroskobu yardımıyla gözlemlenebilir ve sayılabilir. Bu sayımdan süspansiyondaki hücre sayısının mililitredeki karşılığı hesaplanabilir. Hesaplama için kare başına ortalama hücre sayısı x dilüsyon faktörü x 10⁴ formülü kullanılmıştır (Prof. Dr. Velittin Gürgün, 1990).

3.6. Tripan Mavisi Testi

Tripan mavisi boyası geçirgenliği bozulan hücre membranından geçerek hücrenin mavi renge boyanmasını sağlamaktadır. Canlı hücrelerin membran

geçirgenliği bozulmadığı için yuvarlak, parlak ve renksiz olurken ölü hücreler koyu mavi renge boyanmış ve şişmiş halde gözenirler. Hemositometri kullanılarak boyanan ve boyanmayan hücreler kolaylıkla sayılabilir.

Sentezlenen nanopartiküller ile muamele edilen hücreler 6 kuyucuklu plate zemininden toplanarak tüplere alınmıştır. Santrifüj edildikten sonra supernatant atılarak üzerine 100 µL PBS ve 5 µL tripan mavisi boyası eklenmiştir. Boyanın ölü hücreleri boyaması için 5 dk bekledikten sonra hemositometre ile sayımı yapılmıştır (Apohan vd. 2017).

3.7. MTT testi

MTT testiyle, hücre solüsyonundaki canlı hücre sayısı kolorimetrik yöntem kullanılarak kantitatif olarak hesaplanmaktadır. Bu teknik sağlam mitokondrinin aktivitesi sonucu, tetrazolium halkasının indirgenmesiyle formazan kristallerinin oluşması prensibine dayanmaktadır (Berridge MV, 1993). MTT uygulaması gerçekleştirildikten sonra örnekler ELISA okuyucu tarafından analiz edilerek meydana gelen renk değişimine göre çoğalan hücre oranları belirlenmektedir. Tripan mavisi testi yapılan nanopartiküller arasında sitotoksik etkisi görülenlere ve sitotoksik etki gösterdiği hücre hatlarına MTT testi yapılmıştır. Hücreler 37 °C’de inkübe edilip çoğaltıldıktan sonra MTT testi için flask içerisinde tripsin yardımıyla toplanmış ve hemositometrede sayımı yapılmıştır. Sayımı yapılan hücreler, 96 kuyucuklu plate içerisine, her bir kuyucukta 5000 hücre olacak şekilde hesaplanmış ve hazırlanan hücre solüsyonundan bu kuyucuklara 100’er µL ekim yapılmıştır. Ardından 37 °C’de inkübatöre alınmıştır. Her bir madde için 3 plate (24, 48 ve 72 saat) hazırlanmıştır. Hazırlanan plâtelere 24. saatin sonunda MTT solüsyonundan her kuyucuğa 20 µL eklenmiş ve 2-4 saat arası 37 °C’de inkübatörde alüminyum folyoya sarılarak bekletilmiştir (bu işlem karanlık ortamda yapıldı). İnkübatörden çıkartılan plate içerisindeki solüsyon dökülerek üzerine 100 µL DMSO eklenmiş ve solüsyon tamamen homojen hale gelene kadar yaklaşık 15 dk çalkalanmıştır. Ardından 570 nm dalga boyunda spektrometrede absorbans ölçümü yapılmıştır. Bu işlem sırasıyla 48. ve 72. saat içinde tekrarlanmış ve ölçümleri yapılmıştır. Okunan absorbans değerleri 100’lük değerlere çevrilmiş ve canlılığın %50’nin altına düştüğü nokta IC₅₀ değeri olarak hesaplanmıştır (Apohan vd. 2017).

3.8. Kaspaz-3 ve Total Protein Analizi İçin Örneklerin Hazırlanması

Sentezlenen altın ve gümüş nanopartiküller, 6 kuyucuklu platelere ekimi yapılan akciğer kanseri (A549), kolon kanseri (HCT-116), karaciğer kanseri (Hep3B) kronik myeloid lösemi (K562) hücreleri ve sağlıklı hücre hattı olan akciğer epitel hücreleri (BEAS2B) üzerine uygulandıktan sonra, 48. saatte tripsin yardımıyla kuyucuklardan hücreler toplanmıştır. Kullanılan kite ait liziz tamponu ile hücreler liziz edilmiştir. Liziz işlemi için hücrelerin toplandığı tüplere 50 µL liziz buffer eklenmiş ve pipetaj yapılmıştır. Bu işlemden sonra 10 dk buz üzerinde bekletilmiştir. Liziz işlemi tamamlanan tüpler, 4 °C'ye ayarlanmış soğutmalı santrifüjde 10000 rpm'de 1 dk santrifüj edilmiş süpernatant ölçümler için başka tüplere aktarılmıştır.

3.8.1. Total Protein Miktarının Belirlenmesi

Santrifüj sonrası alınan süpernatanta bradford yöntemiyle total protein analizi yapılmıştır. Total protein için her örnekten 5 µL alınıp 96 kuyucuklu plate konulmuştur. Üzerine 250 µL bradford solüsyonu ilave edilmiş ve 20 dk sonra 595 nm dalga boyunda spektrometrede absorbansı ölçülmüştür. Absorbansı ölçülen örneklerin absorbans değerleri µg/mL olarak hesaplanmıştır (Bradford, 1976).

3.8.2. Kaspaz-3 Analizi

Liziz edilen örneklerden 96 kuyucuklu platelere 50'şer µL aktarılmış üzerine 50 µL 2x reaksiyon tamponu ilave edilmiştir. Ardından karanlık ortamda her kuyucuğa 5 µL kaspaz-3 substratı eklenmiş ve 37 °C'de 2 saat bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda platenin 405 nm dalga boyunda spektrometrede absorbansı ölçülmüştür.

Kaspaz-3 protein analizi için Biovision marka kaspaz-3 kolorimetrik analiz kiti kullanılmıştır.

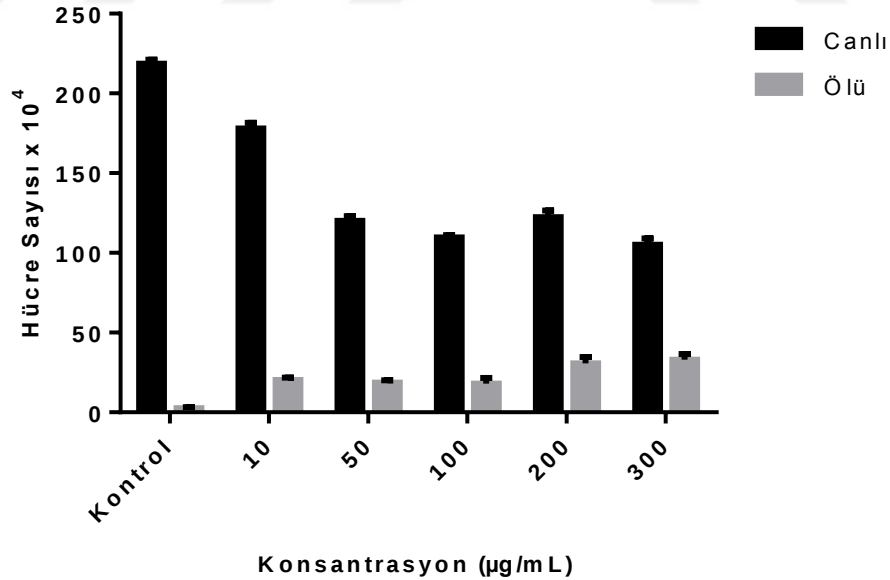
Örneklerin, hesaplanan total protein miktarı içindeki kaspaz-3 miktarı, yüzdelik (%) olarak belirtilmiş ve grafikler bu sonuçlara göre çizilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

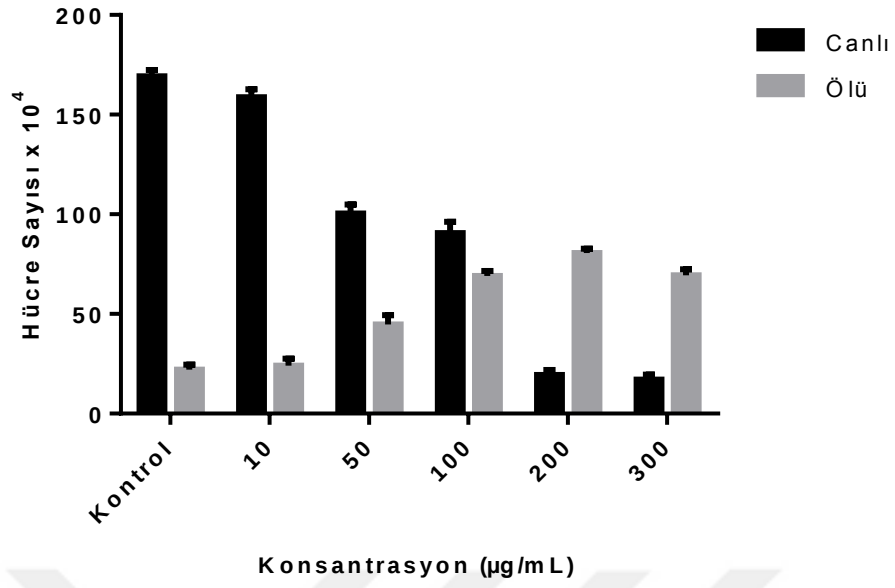
TÜBİTAK tarafından desteklenen 116Z336 nolu proje kapsamında üretilmiş olan AuNP ve AgNP'lerin sitotoksik etkileri A549, HCT-116, Hep3B, K562 hücreleri ve BEAS2B üzerindeki tripsin mavisi ve MTT testleri yapılarak değerlendirilmiştir.

4.1. AgNP'lerin Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik Etkisi

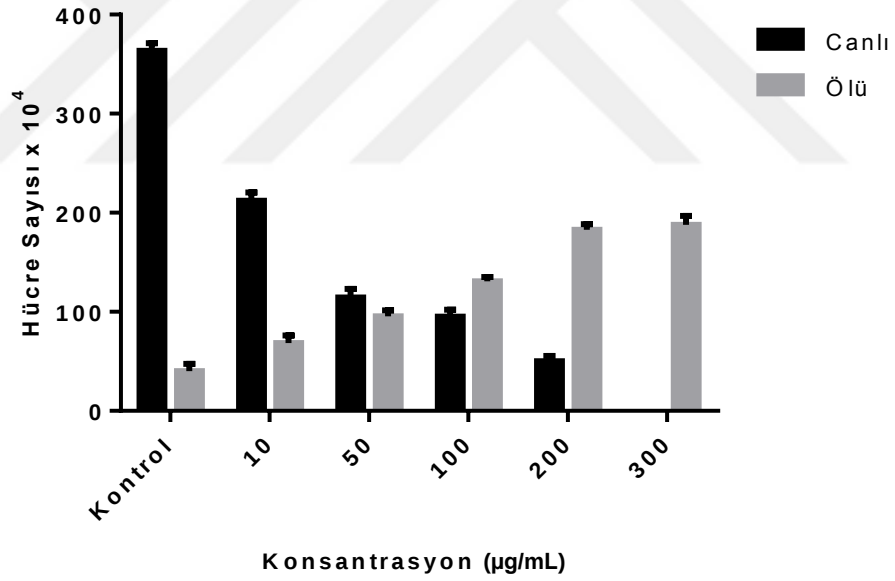
B. adusta filtratından elde edilen ortalama 39 nm boyutundaki AgNP'lerin, farklı konsantrasyonları (10-300 µg/mL) A549, HCT-116, Hep3B, K562 hücreleri ve BEAS2B üzerine uygulanmış tripsin mavisi testleri yapılmıştır. 24 saat sonra hücre sayım yöntemiyle canlı ve ölü hücre sayısı belirlenmiştir. A549 ve BEAS2B hücre hatlarına 24 saatin sonunda, 100 µg/mL konsantrasyonun altında toksik etki gösterdiği (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2), diğer hücre hatları üzerinde ise 50 µg/mL konsantrasyonun altında toksik etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.3 - 4.5). Bu nedenle MTT testi için 100 µg/mL konsantrasyonun altında çalışma yapılmıştır. Gümüş nanopartiküllerin meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerine etkisinin test edildiği bir çalışmada, 24 saatin sonunda hücre canlılığını %50'nin altına düşürdüğü rapor edilmiştir (Seyed vd., 2016).



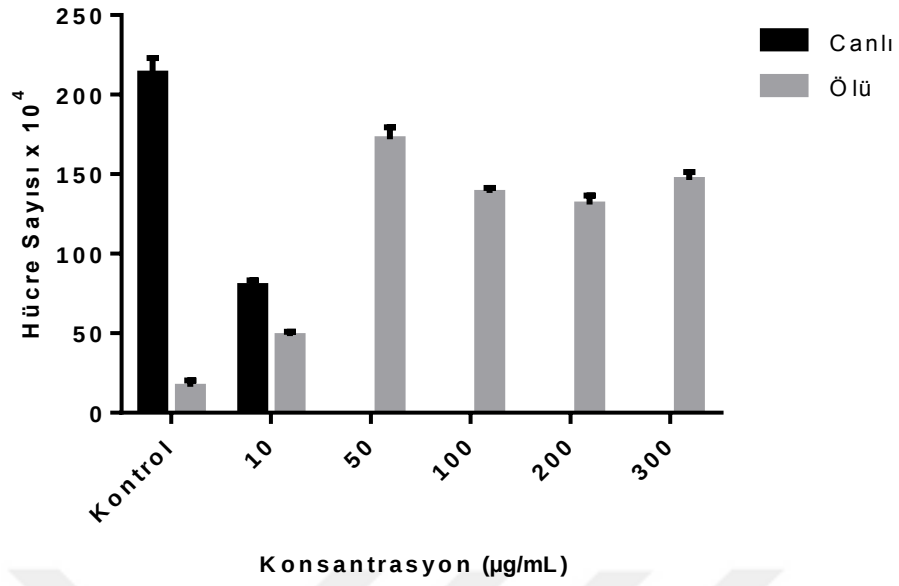
Şekil 4.1. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



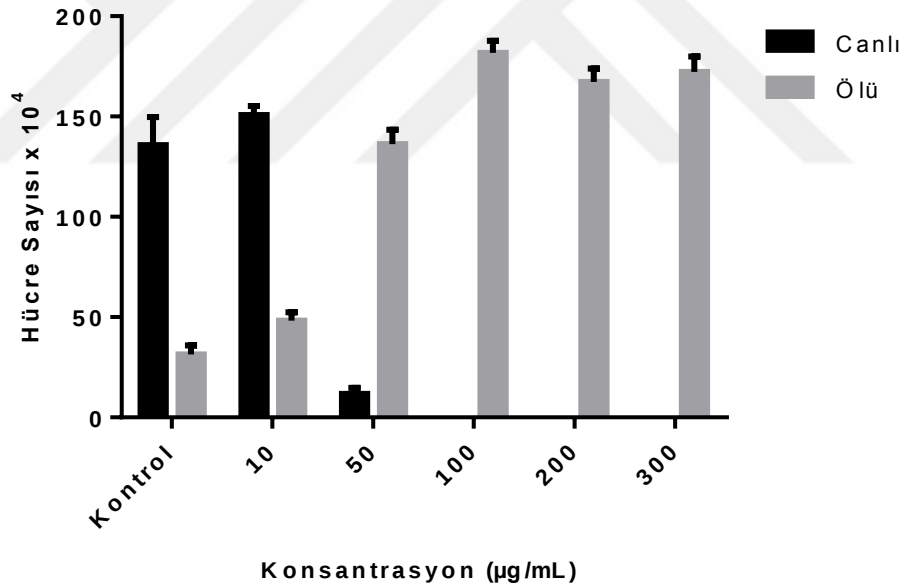
Şekil 4.2. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



Şekil 4.3. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



Şekil 4.4. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



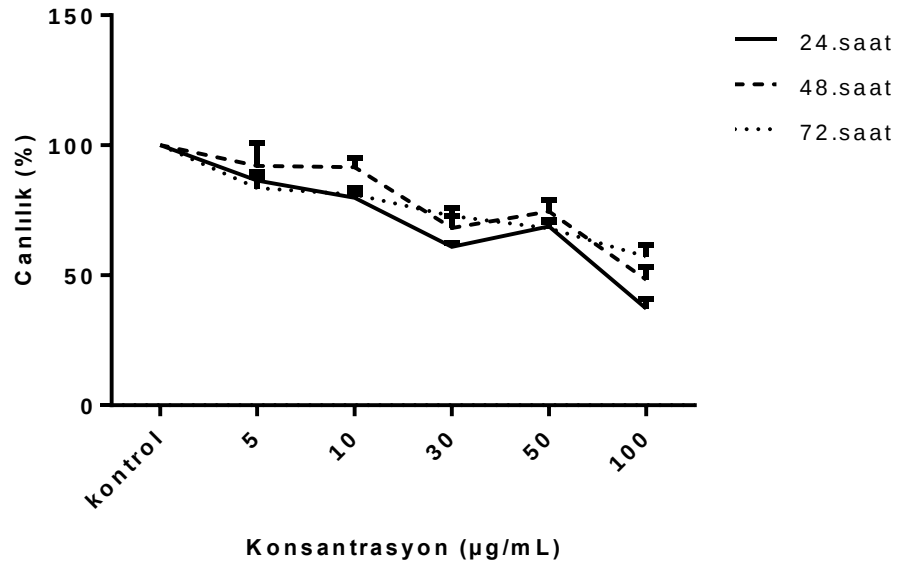
Şekil 4.5. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi

4.2. AgNP'lerin Hücre Hatları Üzerine IC₅₀ Değerleri

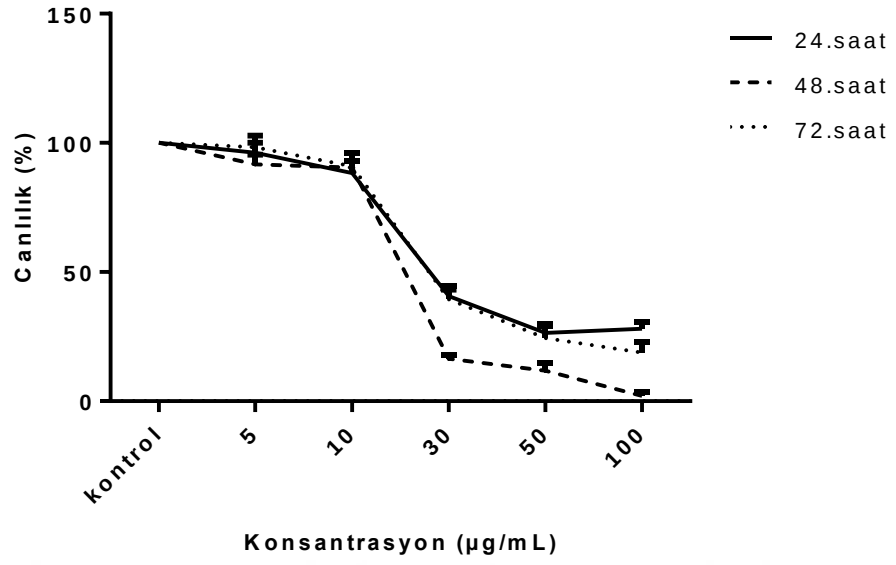
Tripan mavisi testi uygulamasından sonra AgNP'lerin beş hücre hattı üzerine farklı konsantrasyonlarda (5-100 µg/mL) olacak şekilde 24, 48, ve 72., saatlerde muamele edilmiş ve IC₅₀ değerleri MTT testi ile belirlenmiştir.

AgNP'lerin A549, HCT-116 ve Hep3B hücre hatları üzerine sitotoksik etkisi BEAS2B ile karşılaştırıldığında, AgNP'lerin BEAS2B hücre hattına sitotoksik etkisinin daha fazla olduğu Şekil 4.6 - 4.9'dan gösterilmiştir. Ayrıca bu hücre hatları içerisinde en düşük IC₅₀ değerleri BEAS2B hücre hattında hesaplanmıştır (Çizelge4.1) Ancak K562 hücre hattı üzerine AgNP'lerin sitotoksik etkisinin, BEAS2B hücre hattından daha fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.10 ve Çizelge4.1). K562 hücre hattı üzerine imatinibin etkisi baz alındığında, AgNP'lerin sitotoksik etkisinin imatinibten daha az olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3). Bu sonuçlar cisplatin ile karşılaştırıldığında, cisplatinin A549, BEAS2B, Hep3B ve HCT116 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin daha güçlü olduğu görülmüştür (Tablo 2).

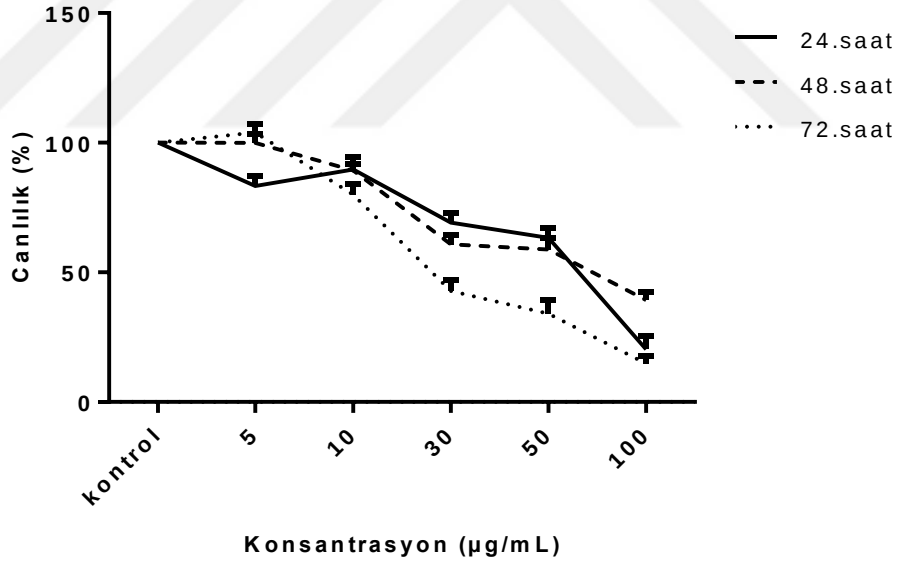
AgNP'lerin epitel adenokarsinomu (HeLa) hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, hücre proliferasyonunun AgNP'ler ile durdurulduğu belirtilmiştir. Ayrıca farklı konsantrasyonlarda (0,001-0,32 mg/mL) uygulanan AgNP'lerin, 24 saat maruz kalma sonunda 0,04-0,08 mg/mL konsantrasyonda HeLa hücre hattı üzerine toksik etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Sreekanth vd., 2016). Bu sonuçlar, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir.



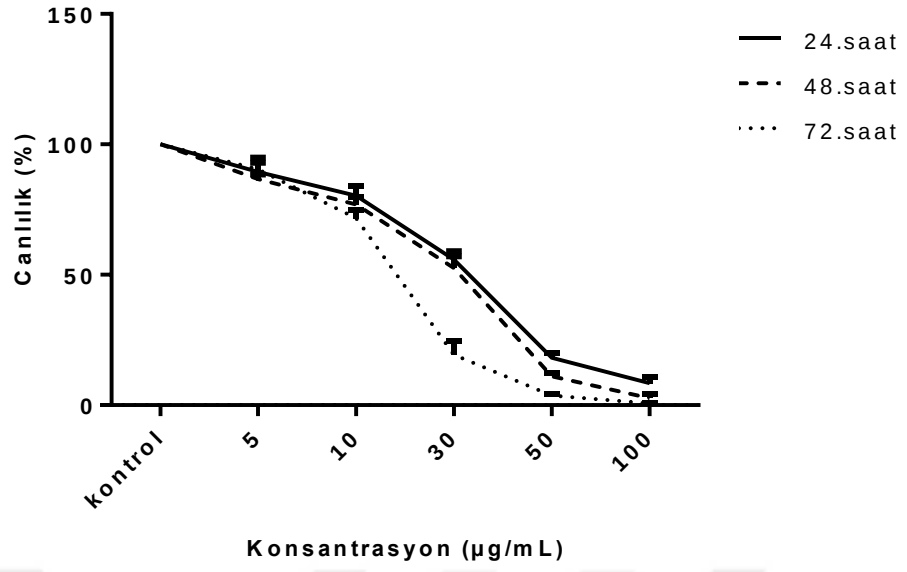
Şekil 4.6. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin A549 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



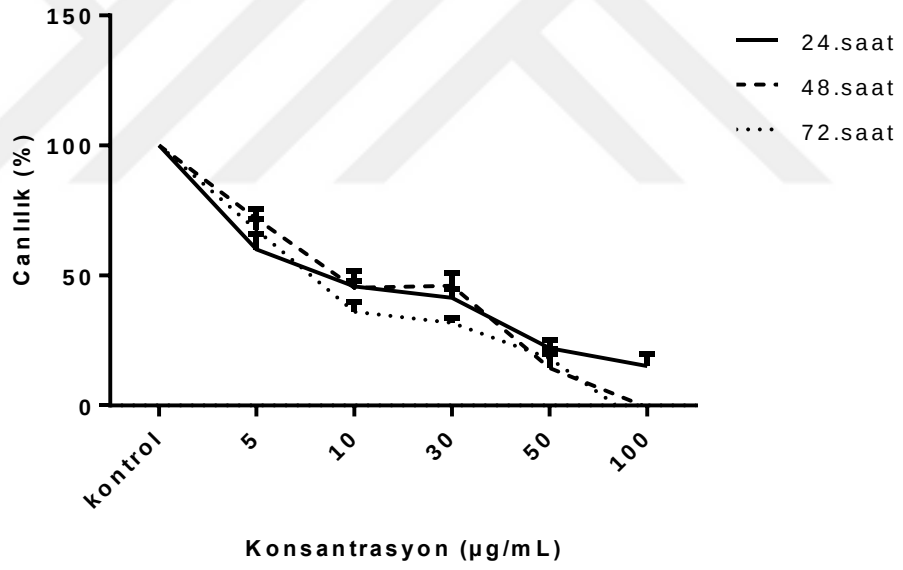
Şekil 4.7. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.8. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.9. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.10. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AgNP'lerin K562 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.

Çizelge 4.1. *B. adusta* filtratından elde edilen AgNP'lerin IC₅₀ değerleri (µg/mL)

<i>B. adusta</i> AgNP	24. saat	48. saat	72. saat
A549	79,76	96,87	>100
BEAS2B	26,10	20,93	25,90
HCT-116	65,49	72,59	26,11
Hep3B	33,10	31,25	18,26
K562	8,52	9,12	7,78

Çizelge 4.2. Cisplatinin IC₅₀ değerleri (µg/mL)

	24. Saat	48. Saat	72. Saat
A549	23,55	6,48	6,75
BEAS-2B	4,72	2,79	2,75
HCT-116	3,52	2,53	2,45
Hep3B	35,19	5,65	7,16

Çizelge 4.3. İmatinibin K562 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri (µg/mL)

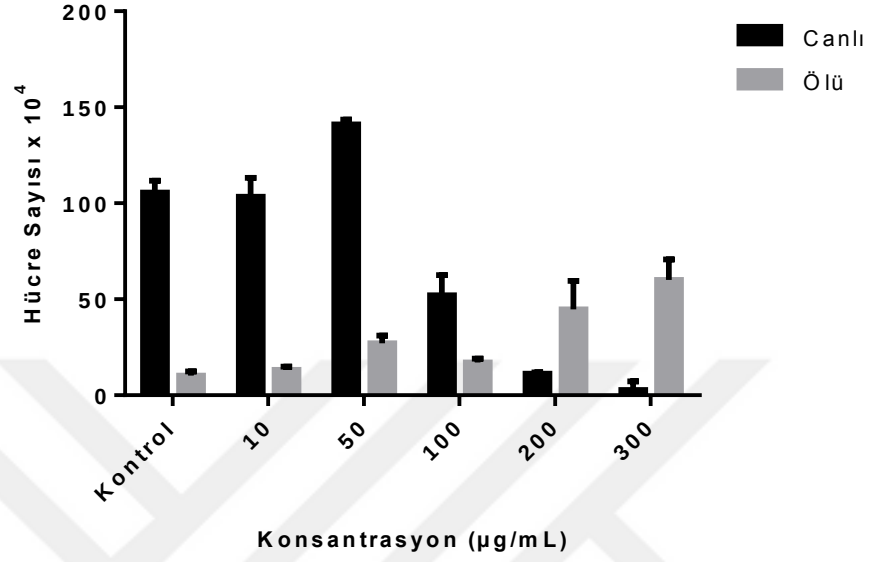
	24. saat	48. saat	72. saat
K562	4,30	4,28	3,33

4.3. AuNP'lerin Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik Etkisi

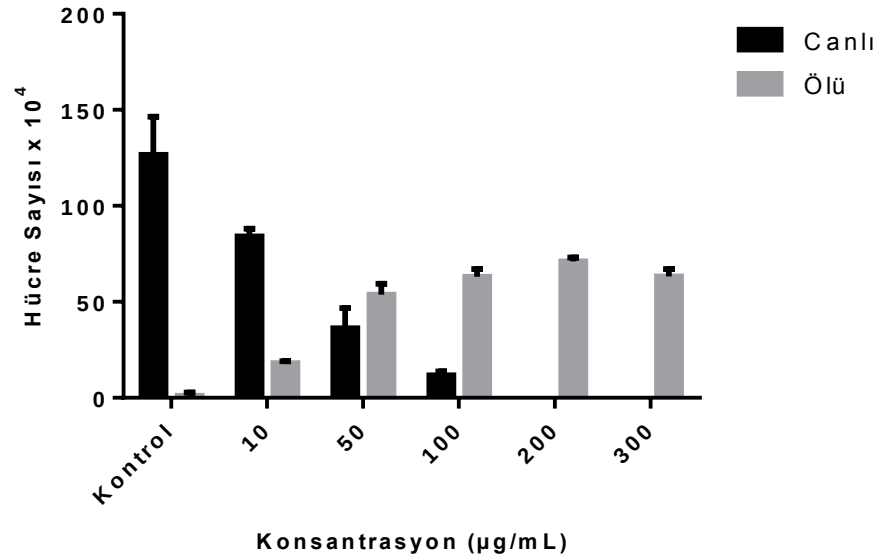
B. adusta filtratı ve özütü kullanılarak sentezlenen AuNP'lerin farklı konsantrasyonları (10-300 µg/mL) A549, BEAS2B, HCT-116, Hep3B ve K562 hücre hatları üzerine uygulanmış ve hücre canlılığı tripan mavisi analizi ile test edilmiştir.

Filtrat ile sentezlenmiş ortalama 25 nm boyutundaki AuNP'ler, A549 hücre hattının canlılığını 50-100 µg/mL aralığındaki konsantrasyonda %50'nin altına düşürmüştür (Şekil 4.11). BEAS2B, HCT-116 ve Hep3B hücre hatlarının canlılığı, 10-50 µg/mL aralığındaki konsantrasyonda %50'nin altına düşmüştür (Şekil 4.12, 4.14). K562 hücre hattının canlılığı ise, 10 µg/mL konsantrasyonun altında %50'nin altına düşmüştür (Şekil 4.15). Bu sonuçlar, filtrattan elde edilen AuNP'lerin A549 hücre hattına sitotoksik etkisinin diğer hücre hatlarına göre daha düşük olduğunu, en yüksek sitotoksik etkisinin ise K562 hücre hattı üzerinde olduğunu göstermiştir. AuNP'lerin meme kanseri hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin olduğu yapılan bir

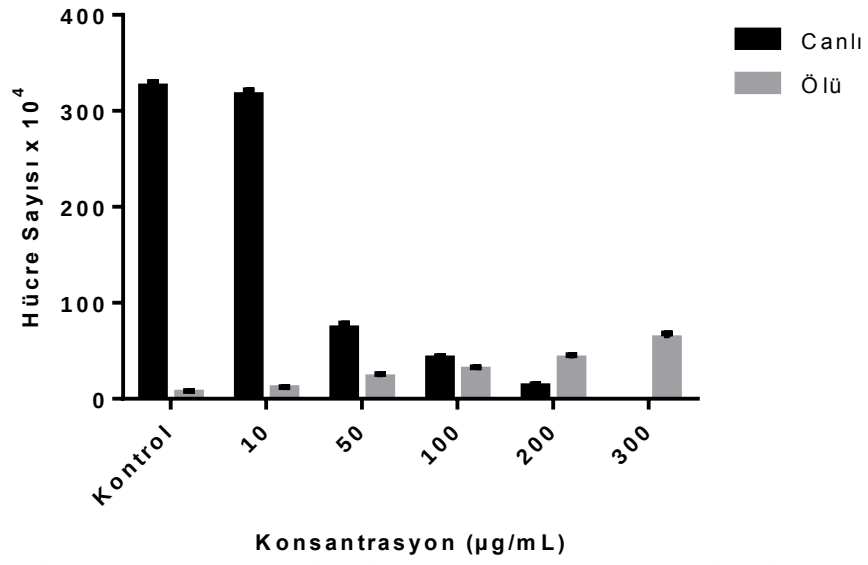
çalışmada rapor edilmiştir(Uma Suganya, 2016). Elde edilen sonuçlar literatür ile benzerlik göstermektedir.



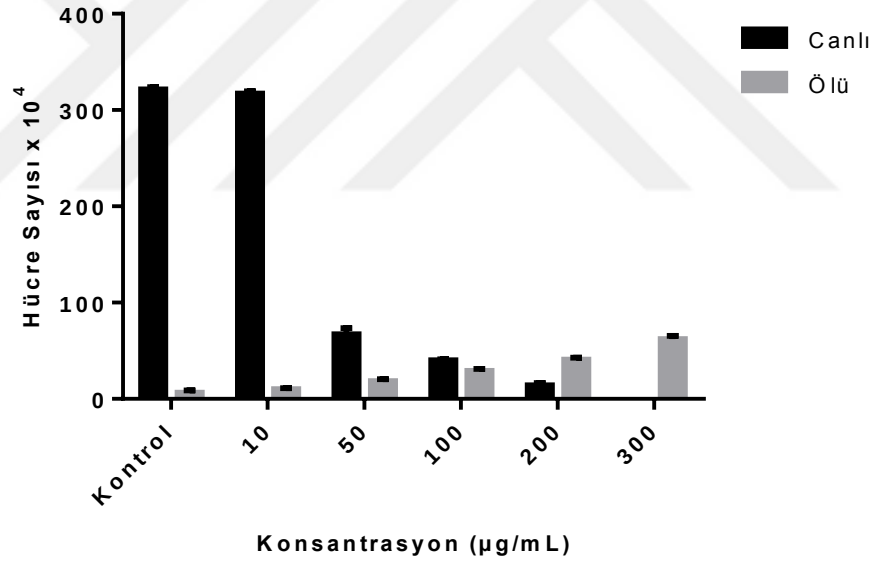
Şekil 4.11. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



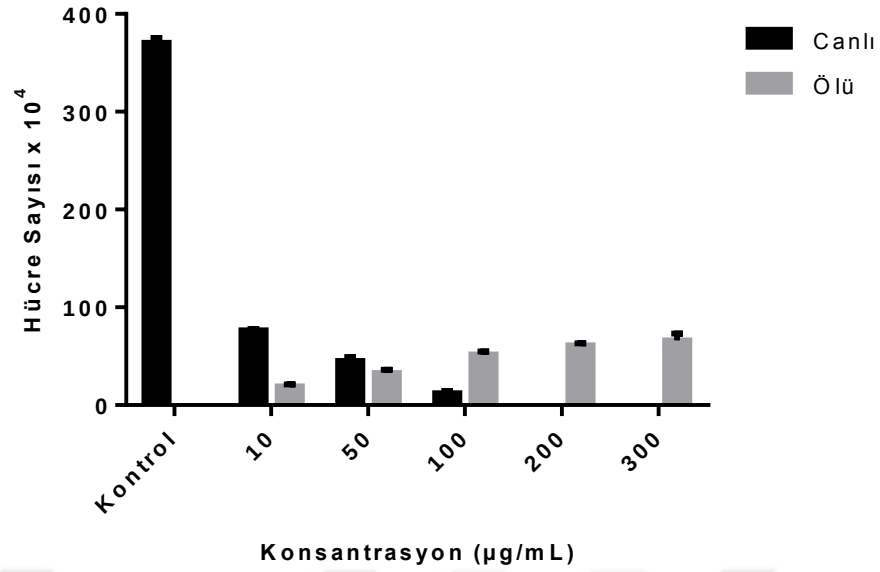
Şekil 4.12. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



Şekil 4.13. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.

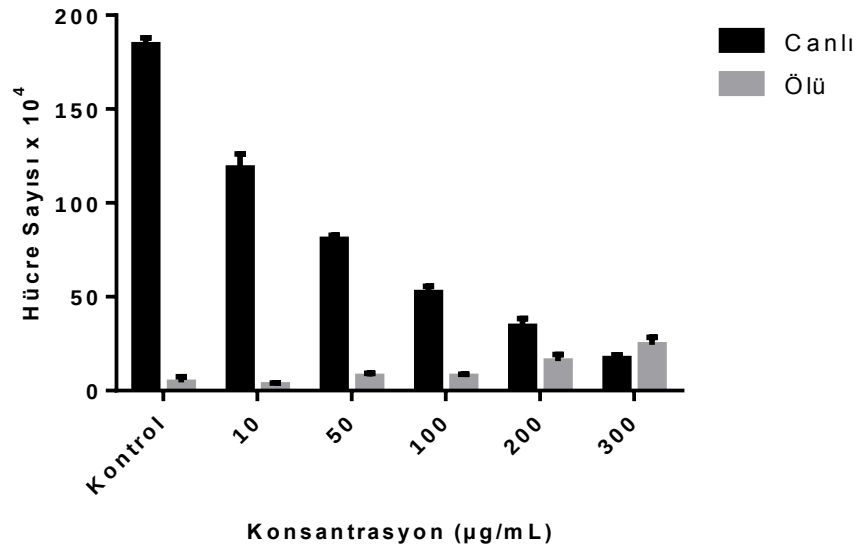


Şekil 4.14. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.

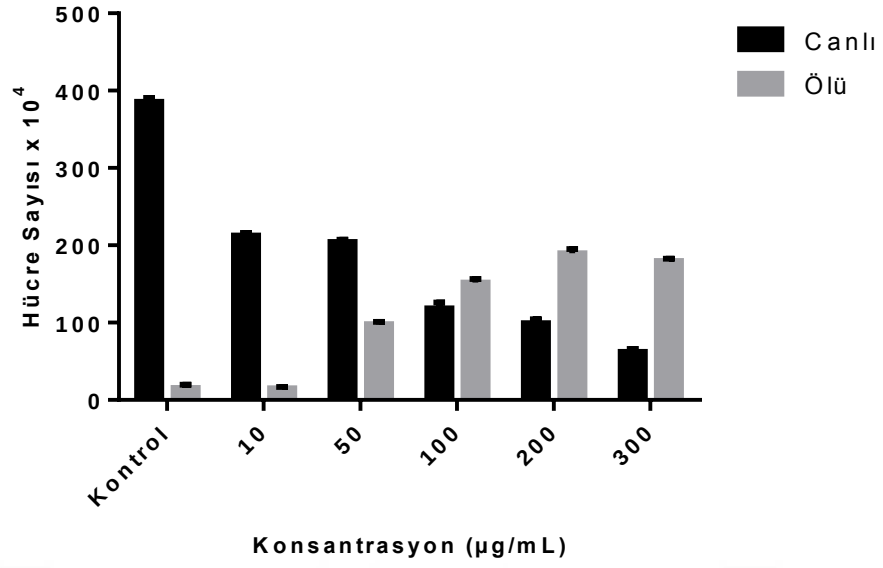


Şekil 4.15. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.

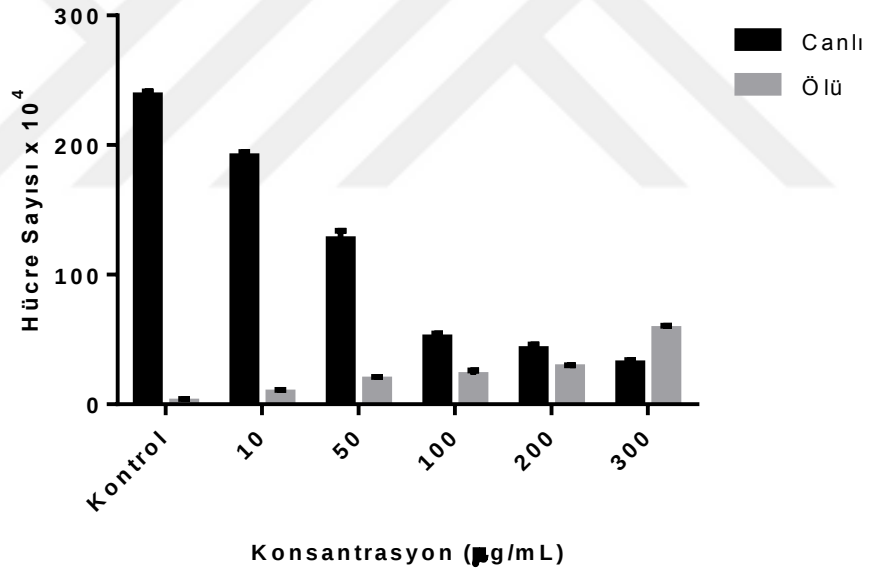
B. adusta özütü kullanılarak sentezlenen ortalama 20 nm boyutundaki AuNP'ler, A549, BEAS2B, HCT-116 ve Hep3B hücre hatlarına 50 µg/mL üzerindeki konsantrasyonlarda (Şekil 4.16-4.19), K562 hücre hattına ise bu konsantrasyonun altında sitotoksik etki göstermiştir (Şekil 4.20).



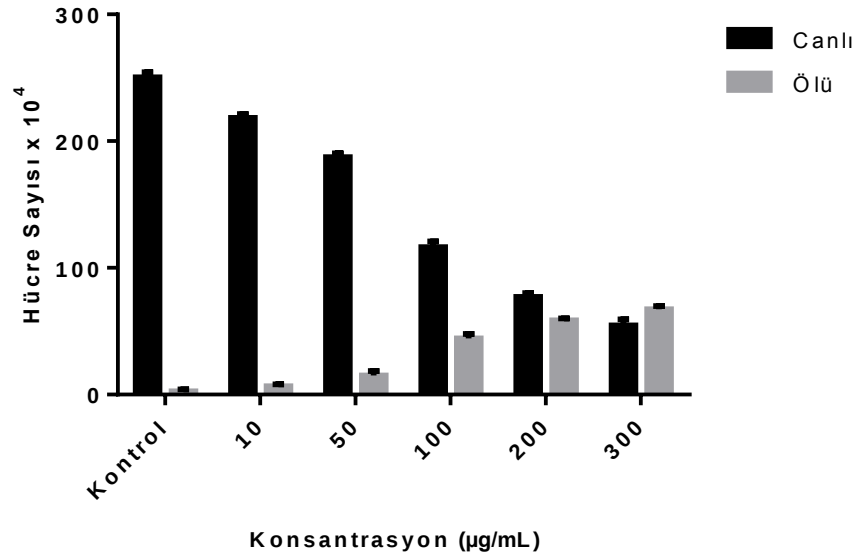
Şekil 4.16. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



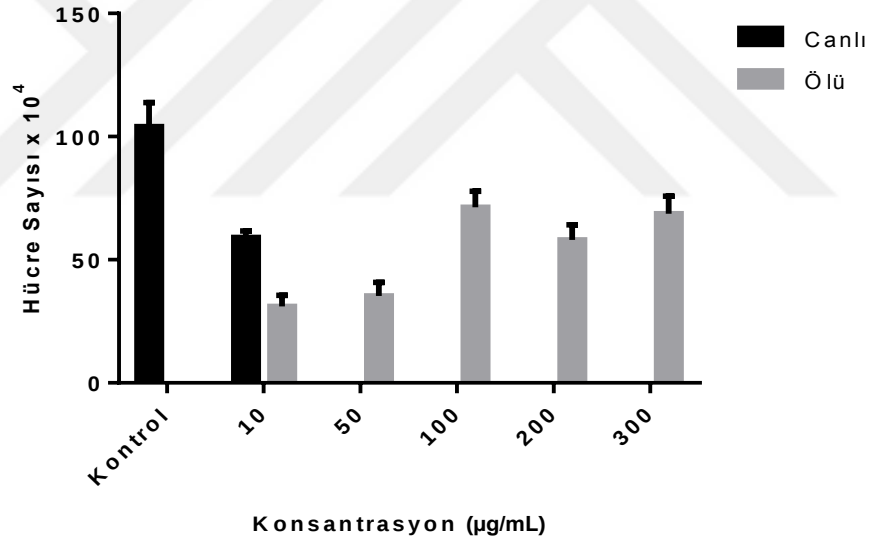
Şekil 4.17. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



Şekil 4.18. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



Şekil 4.19. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.



Şekil 4.20. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine sitotoksik etkisi.

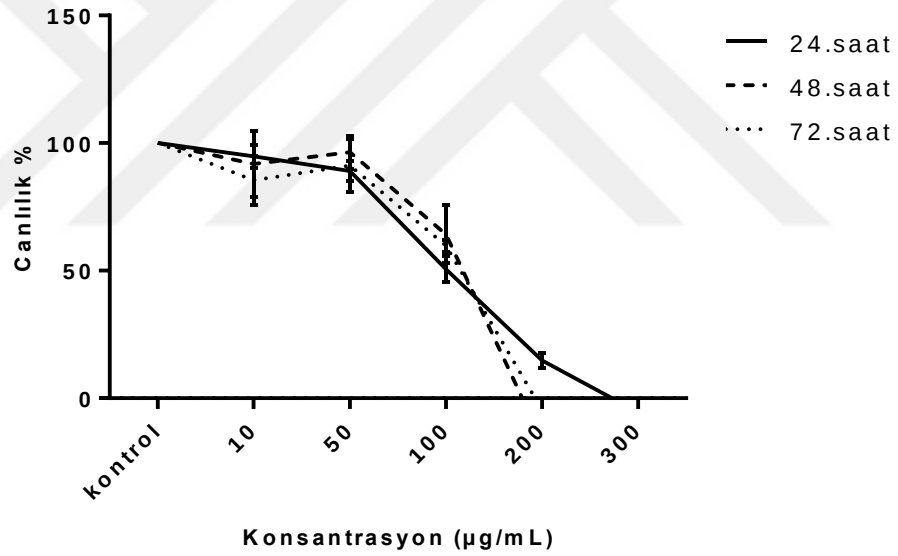
4.4. AuNP'lerin Hücre Hatları Üzerine IC₅₀ Değerleri

Tripan mavisi sonuçları temel alınarak MTT testleri yapılmış ve 24, 48 ve 72. saatin sonunda sitotoksik etkiler IC₅₀ değerleri hesaplanarak saptanmıştır.

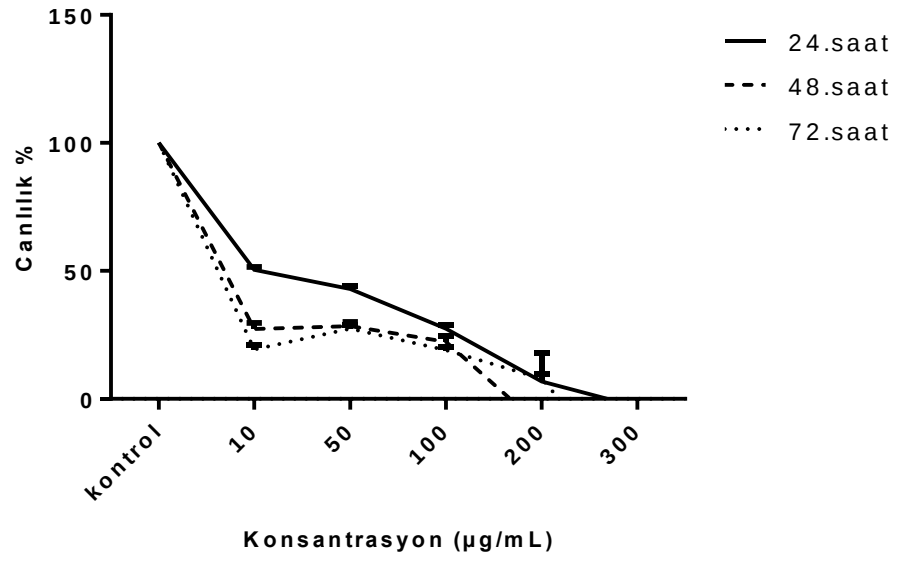
IC₅₀ değerleri (Çizelge 4.4) baz alındığında, filtrat kullanılarak üretilmiş AuNP'lerin A549 hücre hattına olan sitotoksik etkisinin diğer hücre hatlarına göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.21). Filtrat kullanılarak üretilen AuNP'lerin cisplatin ile sitotoksik etkisi karşılaştırıldığında (Çizelge 4.2) AuNP'lerin

daha düşüksitotoksik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca AuNP'lerin A549 hücre hattı üzerine IC₅₀ değerlerinin, cisplatinin IC₅₀ değerlerinden çok yüksek olduğu belirlenmiştir. Filtrat ile üretilen AuNP'lerin, BEAS2B, HCT-116, Hep3B ve K562 hücre hatları üzerine sitotoksik etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.22-4.25). AuNP'lerin bu hücre hatları üzerine olan sitotoksik etkisi cisplatinle karşılaştırıldığında birbirine yakın değerler olduğu görülmüştür (Çizelge4.2 ve Çizelge4.4). Ayrıca, AuNP'lerin etkisi, imatinib ile karşılaştırıldığında birbirlerine yakın değerlere sahip olduğu görülmüştür (Çizelge4.3).

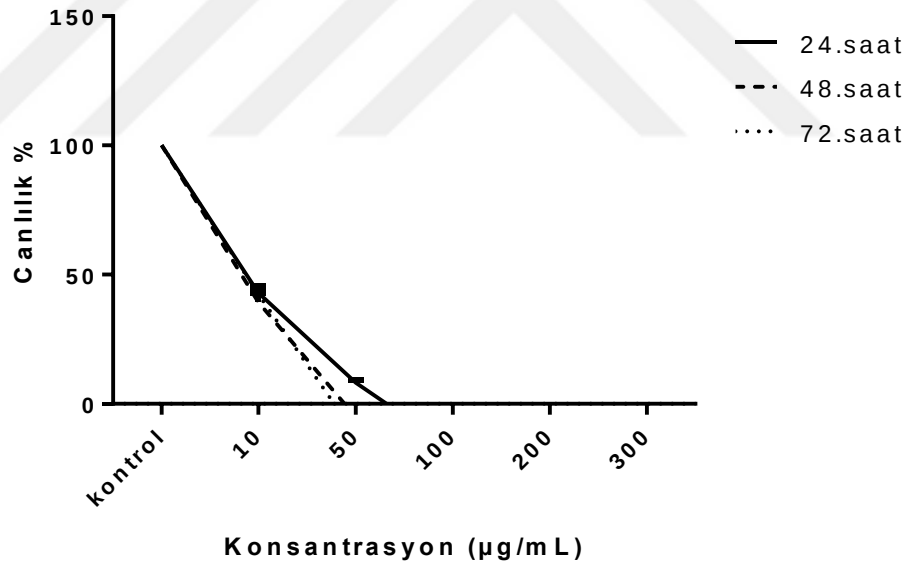
Yapılan bir çalışmada AuNP'lerin kolon kanseri hücreleri üzerine sitotoksik etki yaptığı rapor edilmiştir. 24 ve 48 saat maruz kalma sonunda IC₅₀ değerlerinin sırasıyla 210 ve 180 µg/mL olduğu bildirilmiştir (Mata vd., 2016). Bu değerler göz önüne alındığında, yaptığımız çalışmada daha düşük konsantrasyonlarda sitotoksik etki görülmüş ve daha düşük IC₅₀ değerleri belirlenmiştir.



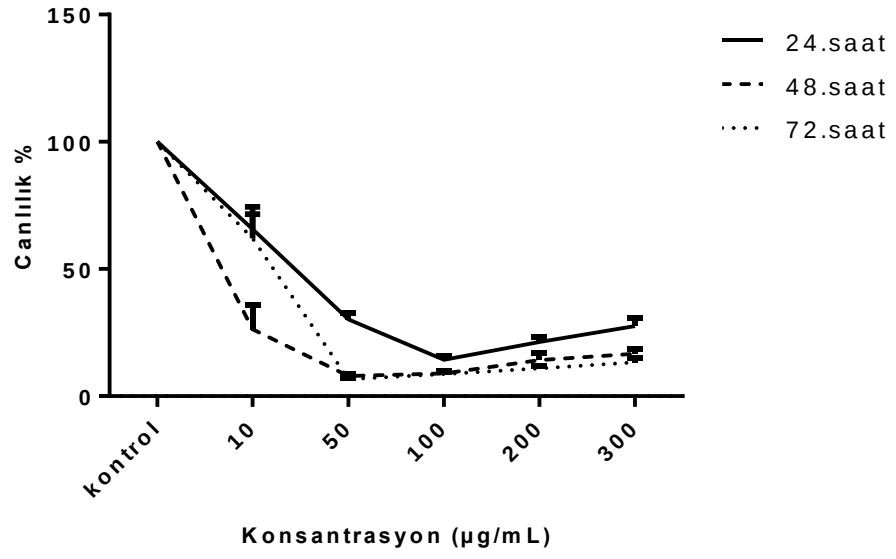
Şekil 4.21. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



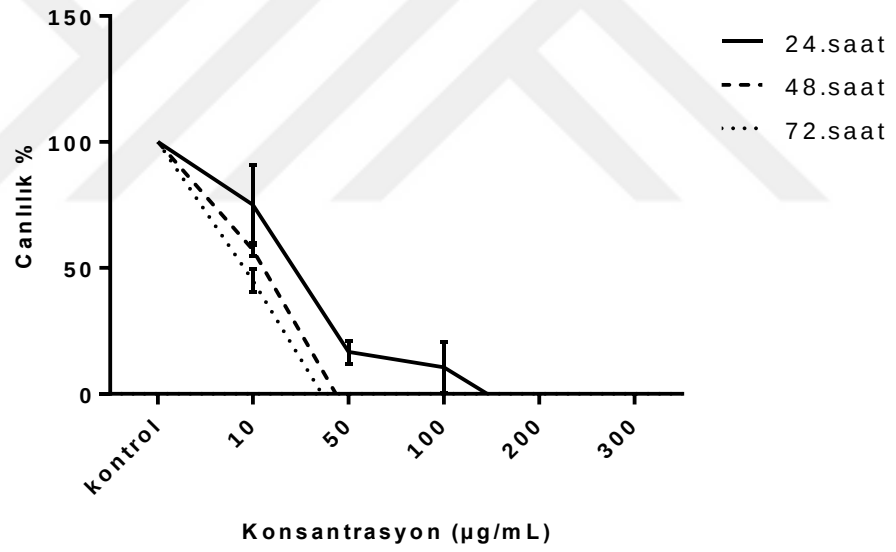
Şekil 4.22. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.23. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.24. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.25. *B. adusta* filtratıyla elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.

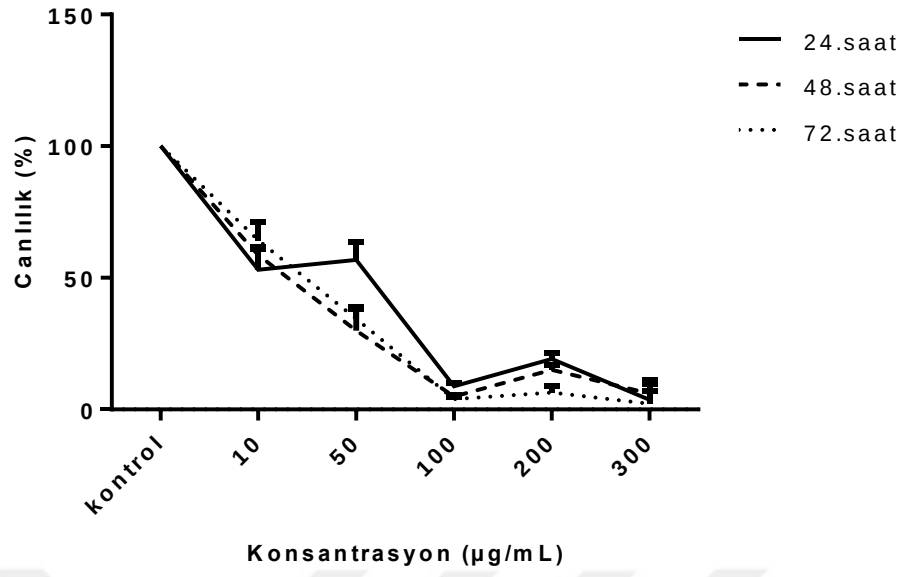
Çizelge 4.4. *B. adusta* filtratından elde edilen AuNP'lerin IC₅₀ değerleri (µg/mL)

<i>B. adusta</i> AuNP	24. saat	48. saat	72. saat
A549	101,74	117,60	115,17
BEAS2B	12,16	6,87	6,20
HCT-116	8,76	8,23	8,68
Hep3B	27,66	6,78	18,70
K562	27,15	14,38	6,76

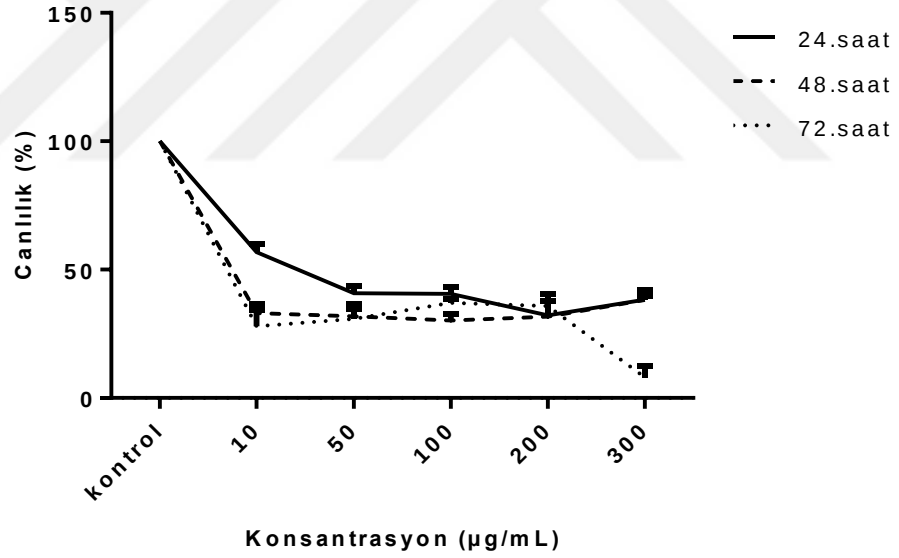
Yaptığımız çalışmada *B. adusta* özütü kullanılarak sentezlenen AuNP'lerin muamelesi sonrası MTT analizleri yapılmış (Şekil 4.26-4.30) ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.5). Sonuçlar, özüt kullanılarak sentezlenen AuNP'lerin filtrat kullanılıp elde edilenlere göre daha fazla sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

MTT testi sonucunda hesaplanan IC₅₀ değerleri, AuNP'lerin, A549 dışındaki diğer hücre hatları üzerine yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, cisplatin ile karşılaştırıldığında ise cisplatinin daha fazla sitotoksik etki gösterdiği gözlenmiştir. Bununla birlikte, AuNP'lerin IC₅₀ değerleri ile cisplatinin IC₅₀ değerleri birbirine yakındır (Çizelge 4.2-Çizelge 4.5).

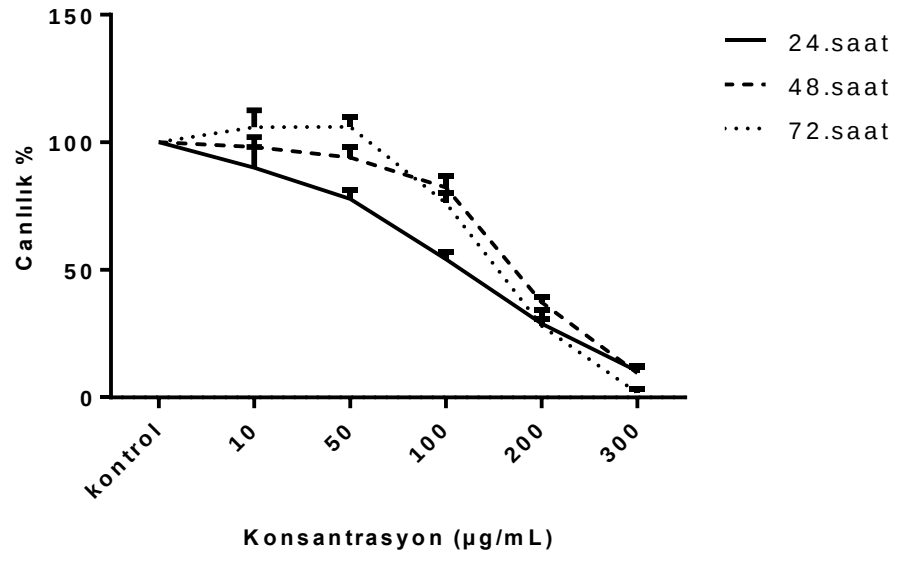
K562 hücre hattı için hesaplanan IC₅₀ değerleri imatinib ile karşılaştırıldığında ise birbirine çok yakın değerler olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, AuNP'lerin karaciğer kanseri (HepG2) hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin araştırıldığı çalışmada elde edilen sonuçlar uyum içerisinde (Balashanmugam ve Durai, 2016).



Şekil 4.26. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



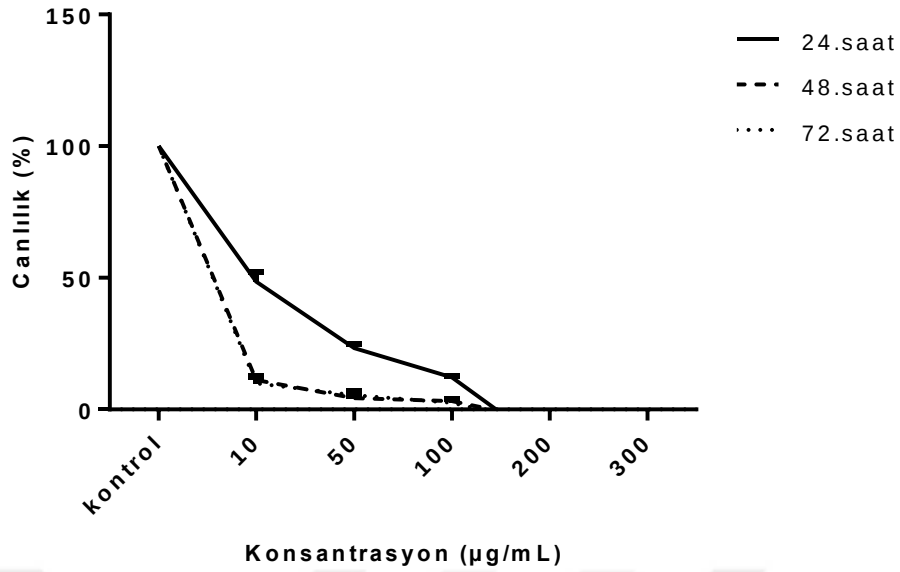
Şekil 4.27. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin BEAS2B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.28. *B. adusta* özütüileelde edilen (pH 12) AuNP'lerin HCT-116 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.29. *B. adusta* özütüile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin Hep3B hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.



Şekil 4.30. *B. adusta* özütü ile elde edilen (pH 12) AuNP'lerin K562 hücreleri üzerine IC₅₀ değerleri.

Çizelge 4.5. *B. adusta* özütü ile elde edilen AuNP'lerin IC₅₀ değerleri (µg/mL)

<i>B. adusta</i> AuNP	24. saat	48. saat	72. saat
A549	57,12	22,04	29,15
BEAS2B	27,02	7,47	6,94
HCT-116	116,73	171,74	154,41
Hep3B	15,25	6,72	5,66
K562	9,72	5,62	5,55

4.5. Altın ve Gümüş Nanopartiküllerin Kaspaz-3 Aktivitesine Etkisi

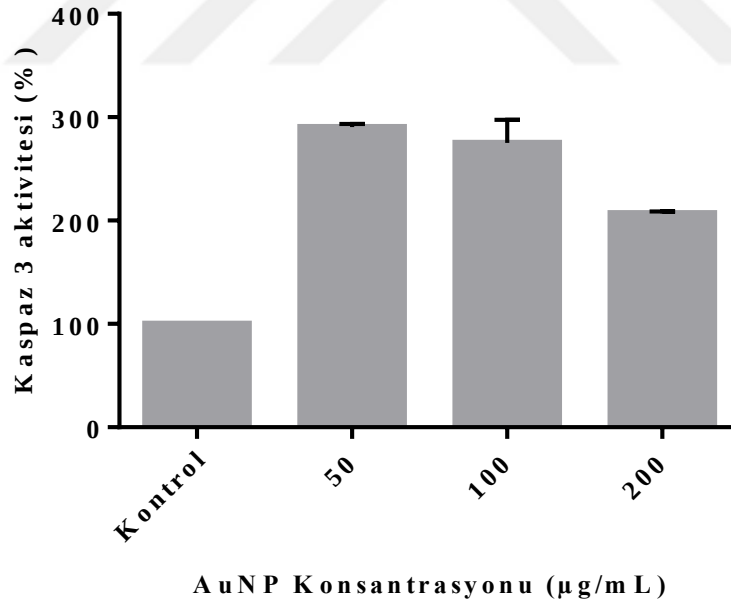
B. adusta filtratı kullanılarak sentezlenen AgNP'ler ve AuNP'lerin, farklı hücre hatlarına farklı konsantrasyonda uygulanması ile hücrelerdeki kaspaz-3 aktivitesindeki değişim ölçülmüştür. Buna bağlı olarak kaspaz-3 spesifik aktivitesi sonuçları Şekil 4.31-4.39'de gösterilmiştir. AgNP ve AuNP'lerin tüm hücre hatlarında kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole kıyasla arttırdığı gözlenmiştir.

4.5.1. AuNP'lerin kaspaz-3 aktivitesine etkisi

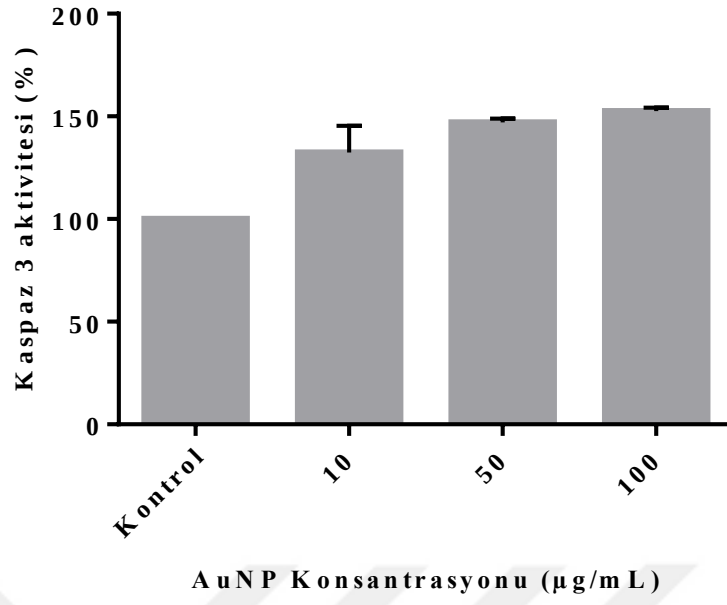
Yaptığımız çalışmada, *B. adusta* filtratı kullanılarak elde edilen AuNP'lerin uygulaması sonucu A549, HCT-116, Hep3B, K562 ve BEAS2B üzerine kaspaz-3 spesifik aktivitesi ölçülmüştür.

AuNP uygulanan A549 hücre hattı üzerine kaspaz-3 aktivitesi, ilk iki konsantrasyonda kontrole göre daha yüksektir. Son konsantrasyonda ise ilk iki konsantrasyona göre daha düşük bir artış oluğu gözlenmiştir (Şekil 4.31). BEAS2B hücre hattında ise kontrol ile karşılaştırıldığında kontrole yakın değerler gözlenmiştir (Şekil 4.32). Bu durum AuNP'lerin A549 hücreleri üzerine sitotoksik etkisinin BEAS2B hücrelerine kıyasla daha fazla olduğunu göstermektedir. HCT-116 hücre hattı hücrelerinin kaspaz-3 aktivitesi, kontrolle karşılaştırıldığında son iki konsantrasyonda artış gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.33). Hep3B ve K562 hücre hatlarında da uygulanan AuNP'lerin konsantrasyonuna bağlı olarak kaspaz-3 aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.34-4.35).

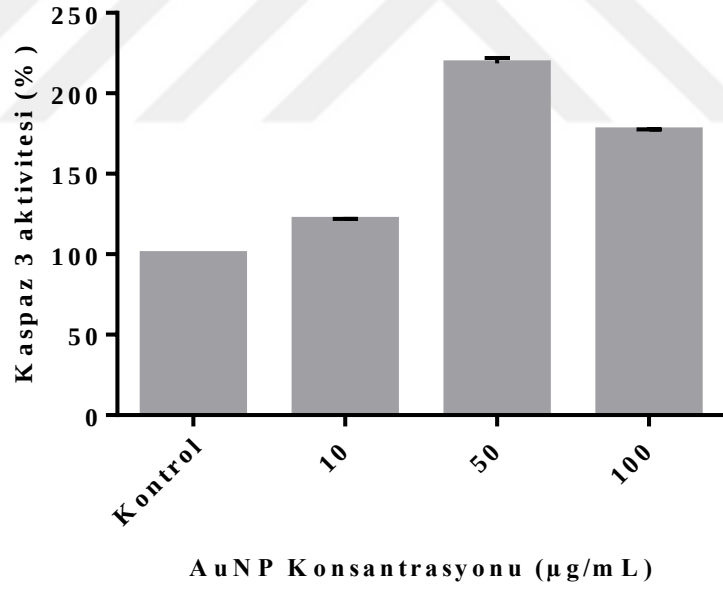
AuNP'lerin kolorektal adenokarsinoma (HT-29) hücre hattı üzerine sitotoksik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, AuNP'lerin konsantrasyonuna (180-720 µg/mL) bağlı olarak 48. saatin sonunda kaspaz-8, kaspaz-9 ve kaspaz-3 aktivitesinde artış olduğu bildirilmiş ve kaspaz-3 proteininin konsantrasyona bağlı olarak artış gösterdiği western blot analizi ile de desteklenmiştir (Mata ve Rani, 2016).



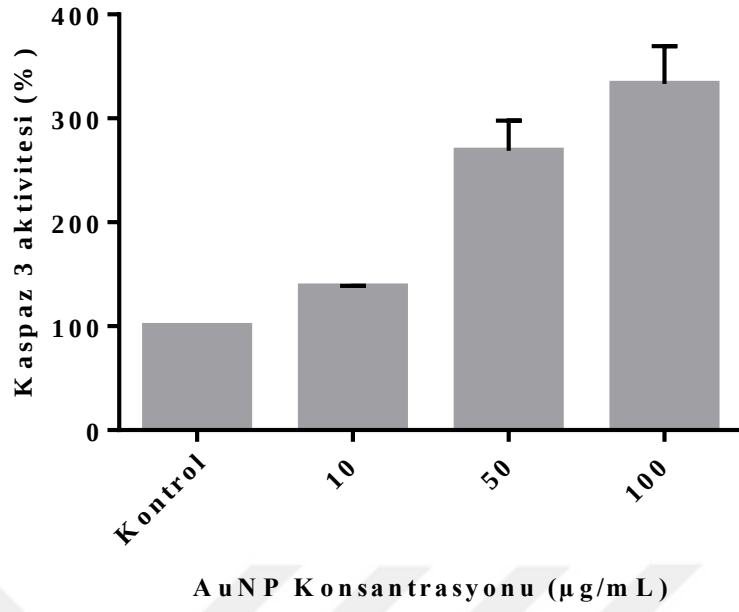
Şekil 4.31. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş A549 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



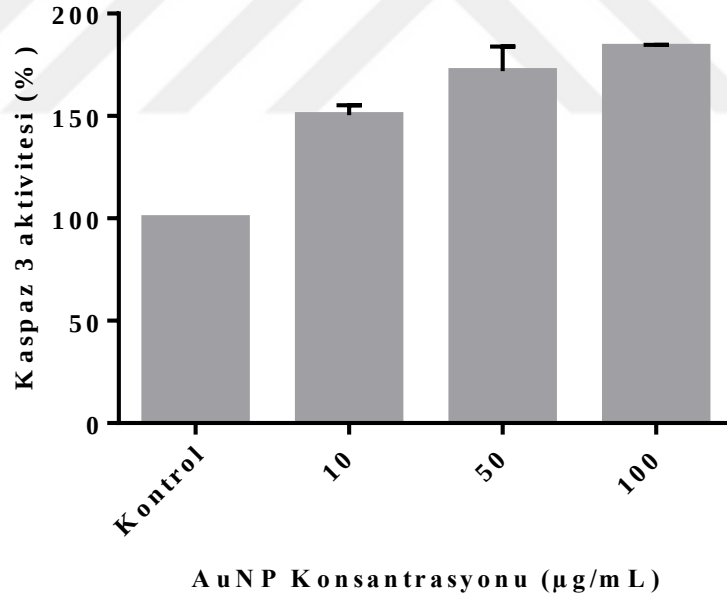
Şekil 4.32. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş BEAS2B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



Şekil 4.33. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş HCT-116 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



Şekil 4.34. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş Hep3B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



Şekil 4.35. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AuNP'lerle muamele edilmiş K562 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.

4.5.2. AgNP'lerin kaspaz-3 aktivitesine etkisi

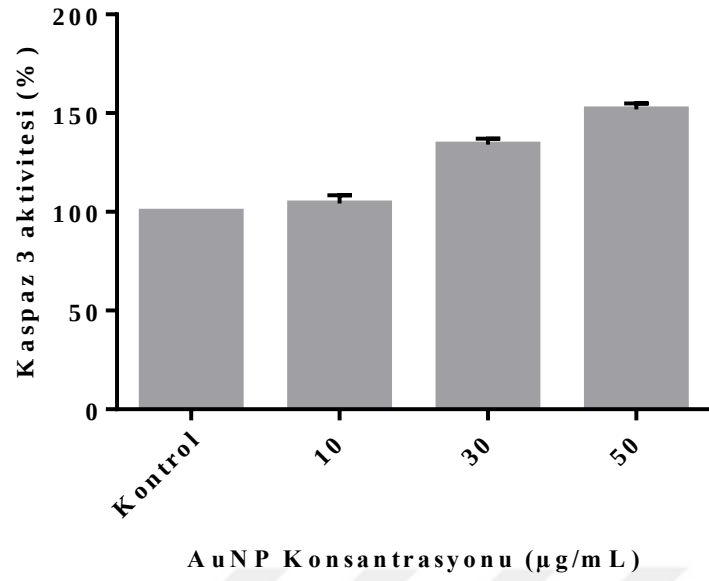
B. adusta filtratı kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin uygulaması sonrasında yapılan MTT analizi sonucunda hesaplanan IC₅₀ değerleri (Çizelge 4.1) dikkate alınarak, kaspaz-3 analizi için kullanılacak konsantrasyon aralığı belirlenmiştir.

AgNP'ye maruz bırakılan BEAS2B hücre hattında IC₅₀ değerleri, A549 hücre hattının IC₅₀ değerleri ile karşılaştırıldığı zaman, AgNP'lerin BEAS2B hücre hattı üzerine daha fazla sitotoksik etki gösterdiği gözlenmektedir. Bu durumu yapılan kaspaz-3 spesifik aktivite analizi desteklemektedir. AgNP'lerin uygulandığı BEAS2B hücre hattında kaspaz-3 spesifik aktivitesi A549 hücre hattına kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.36-4.37).

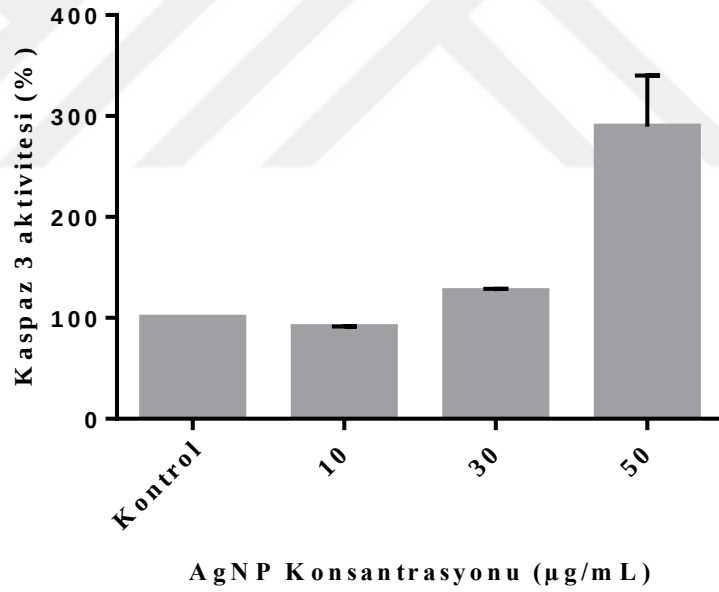
AgNP'lerin uygulandığı BEAS2B hücre üzerine kaspaz-3 aktivitesi, diğer hücre hatlarının kaspaz-3 aktivitesi ile karşılaştırıldığında en fazla artışın BEAS2B hücre hattı üzerine olduğu görülmüştür (Şekil 4.37). Bu durum AgNP'lerin kanserli hücre hatları üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip olmasına karşın sağlıklı hücrede daha fazla sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada, AgNP'lerin BEAS2B, HCT-116, Hep3B ve K562 hücre hatlarında kaspaz-3 aktivitesini arttırdığı görülmüştür. AgNP uygulanan HCT-116 hücre hattında kaspaz-3 aktivitesi, kontrol ile karşılaştırıldığında ilk iki konsantrasyonda kontrole yakın değerlerde olduğu, son konsantrasyonda ise kontrole göre artış gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.38). AgNP'lerin uygulandığı Hep3B hücre hattında kaspaz-3 aktivitesi, kontrol ile karşılaştırıldığında son iki konsantrasyonda artış göstermiştir (Şekil 4.39). Benzer şekilde K562 hücre hattı üzerine uygulanan AgNP'lerin, kontrol ile karşılaştırıldığında kontrole yakın değerlerde olsa da kaspaz-3 aktivitesinde artış olduğu görülmüştür (Şekil 4.40).

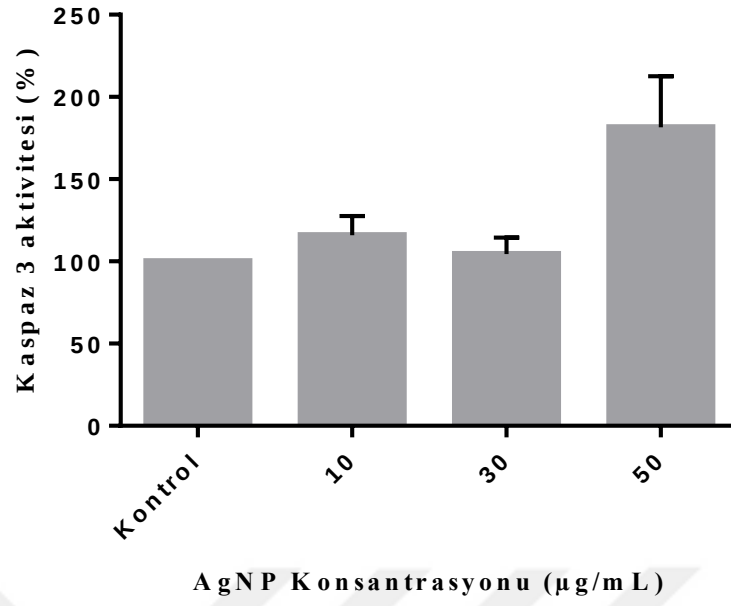
AgNP'lerin 3,23 mg/mL konsantrasyonda hem MCF-7 hem de A549 hücre hattı üzerine sitotoksik etki yaptığı ve MCF-7 hücre hattı üzerine A549 hücre hattına göre daha fazla sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir. (Elhussein vd. 2014).Elde edilen sonuçlar, AgNP'lerin meme kanseri (MCF-7) ve akciğer epitel hücreleri (A549) üzerine sitotoksik etkisinin araştırıldığı çalışma ile benzerlik göstermektedir.



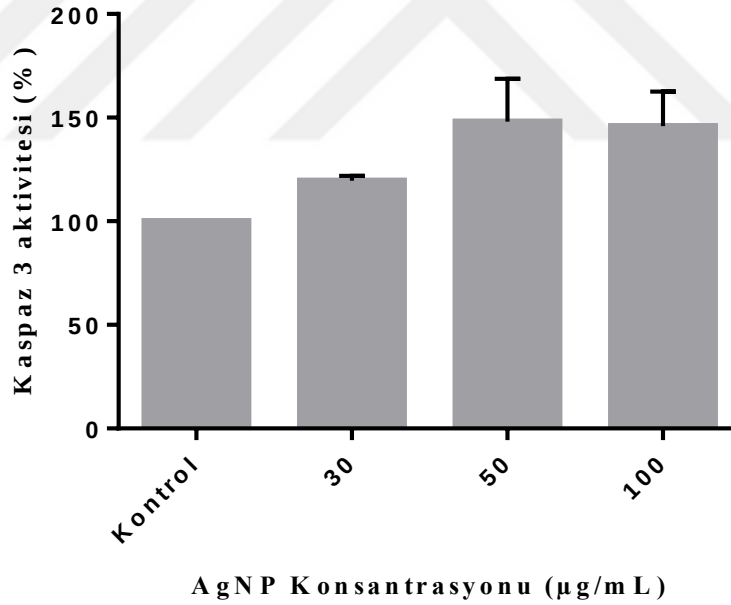
Şekil 4.36. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş A549 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



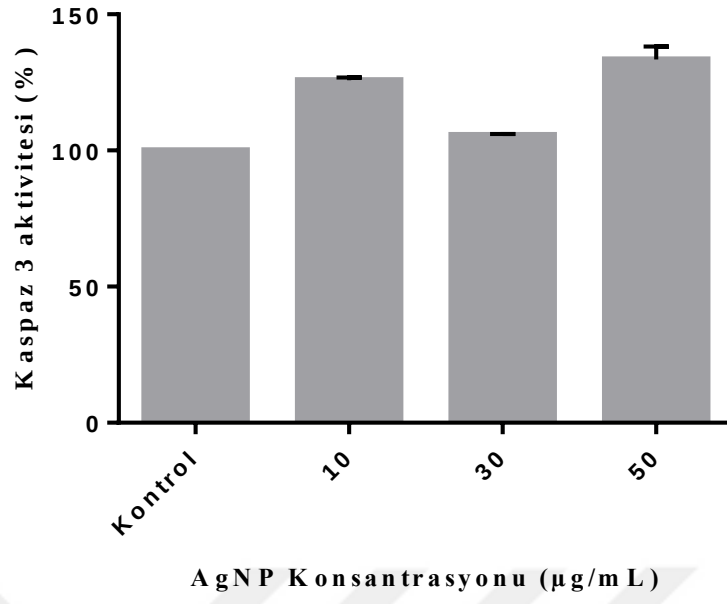
Şekil 4.37. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş BEAS2B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



Şekil 4.38. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş HCT-116 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



Şekil 4.39. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş Hep3B hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.



Şekil 4.40. *B. adusta* filtratı ile sentezlenmiş AgNP'lerle muamele edilmiş K562 hücrelerinde kaspaz-3 spesifik aktivitesinin kontrole göre değişimi.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *B. adusta* filtrat ve özütü kullanılarak sentezlenmiş AgNP ve AuNP'lerin sitotoksik etkisi çalışılmıştır. *B. adusta* filtratı ve özütü kullanılarak sentezlenen AgNP ve AuNP'lerin kanserli hücre hatları üzerine sitotoksik etkisinin olduğu ancak bu sitotoksik etkinin sağlıklı hücre hattına daha fazla olduğu gözlenmiştir. Buna ek olarak, AgNP ve AuNP'lerin IC₅₀ değerleri ile cisplatinin ve imatinibin IC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında, AgNP ve AuNP'lerin IC₅₀ değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Filtrat kullanılarak elde edilen AuNP'lerin A549 hücre hattına sitotoksik etkisinin özütten elde edilen AuNP'lerin sitotoksik etkisinden daha fazla olduğu, HCT-116 hücre hattına ise özütten elde edilen AuNP'lerin sitotoksik etkisin filtrat kullanılarak elde edilen AuNP'lerin sitotoksik etkisinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte diğer hücre hatlarına olan sitotoksik etkileri ise birbirlerine yakın değerlere sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.4-4.5).

Çalışmada, AgNP ve AuNP'lerin kanserli hücre hatları üzerinde kaspaz-3 aktivitesi üzerine etkisi de araştırılmıştır. Kontrolle karşılaştırıldığında uygulanan konsantrasyon arttıkça kaspaz-3 aktivitesinde de artış gözlenmiştir. Bu durum, AgNP ve AuNP'lerin kanserli hücrelerde apoptozu indüklediğini göstermektedir.

Sonuç olarak; sentezlenen AgNP ve AuNP'lerin sitotoksik etkisinin olduğu, kanserli hücrelerin proliferasyonunu durdurduğu gözlenmiştir. AgNP ve AuNP'lerin uygulama konsantrasyonları cisplatin ve imatinibten daha yüksektir. Bu nedenle AgNP ve AuNP'ler üzerinde daha detaylı çalışmalar yapılması uygun olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abraham S. A., C. McKenzie, D. Masin, T. O. Harasym, L. D. Mayer, and M. B. Bally (2004). *J. Clin. Cancer. Res.* **10**, 728.
- Ahmad A and Gadgeel S (ed) 2016 Lung Cancer and Personalized Medicine(Advances in Experimental Medicine and Biology) vol **893** (Cham: Springer) (<https://doi.org/10.1007/978-3-319-24223-1>)
- Ajnai, G. Chiu, A. Kan, T. Cheng, C.-C. Tsai, T.-H. ve Chang, J., (2014). "Trends of gold nanoparticle-based drug delivery system in cancer therapy", *J Exp Clin Cancer Res*,**6**: 172-178.
- Akbulut, H ve Akbulut K.G. 2005. *Tıbbi Onkoloji Kitabı*. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Antıp Yayınları, Editör İçli F. Sayfa 23
- Apohan, E., Yılmaz Ü., Yılmaz Ö., Serindağ A., Küçükbaş H., Yeşilada Ö., Baran Y. (2017). Synthesis, cytotoxic and antimicrobial activities of novel cobalt and zinc complexes of benzimidazole derivatives, *J. Organomet. Chem.*, **828**, 52 – 58.
- Ashokkumar, T.Arockiaraj, Jesu Vijayaraghavan, K. Environmental Progress & Sustainable Energy Environ. Prog. *Sustainable Energy***35**-6-1944-7442, 2016.
- Aslan, A., 2011. *Ratlarda Azoksimetan Uygulanarak Oluşturulan Kolorektal Kanserde Likopenin Siklooksijenaz-2 (Cox-2), Kaspaz-3, Kaspaz-9, Bax, Bcl-2, P53 Proteinlerinin Ekspresyonu ve DNA Hasarı Üzerine Etkisi*, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Augello C, Caruso L, Maggioni M, ve ark. Inhibitors of apoptosis proteins (IAPs) expression and their prognostic significance in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*. 2009;**9**:125.
- Balashanmugam P, & Durai, Prabhu & M.D., BalaKumaran & Kalaichelvan, Puthupalayam. (2016). *J Photochem Photobiol B: Biology*.**165**. 10.1016/j.jphotobiol.2016.10.013.
- Bernards R, Weinberg RA (2002) A progression puzzle. *Nature***418**(6900):823
- Berridge MV, Tan AS. Characterization of the cellular reduction of 3-(4,5-dimethylthiazol-2 yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT): subcellular localization, substrate dependence, and involvement of mitochondrial electron transport in MTT reduction. *Arch Biochem Biophys*. 1993;**303**(2):474–82
- Bhattacharya, R. & Murkherjee, P. (2008). *Biological properties of ‘naked’ metal nanoparticles*, *Advanced Drug Delivery Reviews*,**60**, 1289–1306.
- Bhushan B., Springer Hand Book of Nanotechnology, 5-8, 2010 (1964-1577).
- Bhuvanasree, S.R. & Sindhu, K & Rajaram, Anantanarayanan & Rajaram, Rama. (2015). *Process Biochem*.**50**. 10.1016/j.procbio.2015.08.003.

- Bilir, N. 2007. *Mesleksel Kanserler. Türkiye’de Kanser Kontrolü* kitabı. Editör Tuncer M. Sayfa 243.
- Boffetta P, Nyberg F (2003) Contribution of environmental factors to cancer risk. *Br Med Bull* **68**:71–94
- Bozic I, Antal T, Ohtsuki H, Carter H, Kim D, Chen S, et al. (2010) Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**:18545–18550
- Bradford, M. M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of MicrogramQuantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.***72**:248-254.
- Byrd J. C., D. M. Lucas, A. P. Mone, J. B. Kitner, J. J. Drabick, and M. R. Grever (2000). *J. Hematol.***101**, 4547.
- Camerin M, Magaraggia M, Soncin M, et al. The in vivo efficacy of phthalocyanine-nanoparticle conjugates for the photodynamic therapy of amelanotic melanoma. *Eur J Cancer*. 2010;**46**(10):1910–1918.
- Carbone D (1992) Smoking and cancer. *Am J Med***93**(1):S13–S17.
- Cecil R, Goldman L, Bennett JC. *Cecil Textbook of Medicine*. 21st ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000.
- Chen PC, Mwakwari SC, Oyelere AK. Gold nanoparticles: From nanomedicine to nanosensing. *Nanotechnol Sci Appl*. 2008;**1**:45–65.
- Chen W., W. Cai, L. Zhang, G. Wang, Sonochemical processes and formation of gold nanoparticles within pores of meso porous silica, *J. Colloid Interface Sci.* **238** (2001) 291–295.
- Chen, E.F., & Tsay, H.S. (2013). Anti-metastatic activity of biologically synthesized gold nanoparticles on human fibrosarcoma cell line HT-1080, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*,**110**, 163–170.
- Costa C., A. Conte, G.G. Buonocore, M.A. Del Nobile, Antimicrobial silver-montmorillonite nanoparticles to prolong the shelf life of fresh fruit salad, *Int. J. Food Microbiol.* **148** (2011) 164–167.
- Dahl R., K.F. Chung, R. Buhl, H. Magnussen, Nonikov, D. Jack, P. Bleasdale, R. Owen, M. Higgins, B. Kramer, Efficacy of a new once-daily long-acting inhaled β 2-agonist indacaterol versus twice-daily formoterol in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* **65** (2010) 473–479.
- Das S.K., M.M.R. Khan, A.K. Guha, A.R. Das, A.B. Manda, Silver-nanobiohybride material: synthesis, characterization and application in water purification, *Bioresour. Technol.* **124** (2012) 495–499.

- Dellabona, P. Moro, M., Crosti, MC, Casorati, G. and Corti, A .1999.Vascular attack and immunotherapy: a ‘two hits’ approach to improve biological treatment of cancer. *Mol Ther.* **6**, 153-154.
- Devanesan S, & AlSalhi, Mohamad & Vishnubalaji, Radhakrishnan & A. Alfuraydi, Akram & Alajez, Nehad & Alfayez, Musaad & Murugan, Kadarkarai & Rushdy,Shaban & Nicoletti, Marcello & Benelli, Giovanni. (2017). *J CLUST SCI***28**. 10.1007/s10876-016-1134-4.
- Dinçol G. *Klinik Hemotoloji*. İstanbul:Nobel Tıp Kitapevi; 2003.
- Doğan M, Akbulut H. 2009. Kolorektal kanserde adjuvan tedavi. *T. Klinikleri Tıbbi Onkoloji Özel Dergisi***2** (3):49-57.
- Doll R, Hill AB (1950) Smoking and carcinoma of the lung. *Br Med J***2**(4682):739–748.
- Elhussein, Ahmed & Mfouo Tynga, Ivan & Abd El-Harith, Mohamed & Abrahamse, Heidi. (2014). Photodynamic ability of silver nanoparticles in inducing cytotoxic Frattini A., N. Pellegrini, D. Nicastro, O. de Sanctis, Preparation of amine coated silver nanoparticles using triethylenetetramine, *Mater. Chem. Phys.***94** (2005) 148–152.
- Farrer N. J., L. Salassa, and P. J. Sadler (2009). *Dalton. Trans.***48**, 10690.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin D M, Forman D and Bray F 2015 Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 *Cancer Ther Oncol Int J.* **136** E359–86.
- Ferrara N (2005) VEGF as a therapeutic target in cancer. *Oncology* **69**(Suppl 3):11–16
- Fışkın, K. 2002. *Genetik Kavramlar*. Altıncı baskıdan çeviri. Öner, C. Sayfalar 635-651.
- Fidler IJ (2003) The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer***3**(6):453–458
- Friedl P, Alexander S (2011) Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell* **147**(5):992–1009.
- Folkman J (2002) Role of Angiogenesis in tumor growth and Metastasis. *Semin Oncol***29**(6 Suppl 16):15–18.
- Gastman BR. *Apoptosis and its clinical impact*. Head Neck, 2001; **23**(5): 409-25.
- Goldman E., A. Zinger, D.S. Da, Z. Yaari, A. Kajal, D. Vardioknin, M. Goldfeder, J. Schroeder, J.R. Shainsky, D. Hershkovitz, Nanoparticles target early-stage breast cancer metastasis in vivo, *Nanotechnology* **28** (2017) 43LT01.
- Goldman JM. *Chronic myeloid leukemia*. Curr Opin Hematol. 1997;**4**:277- 285.

- Goldstraw P et al 2016 The IASLC lung cancer staging project: Proposals for revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (eighth) edn of the TNM Classification for lung cancer. *J Thorac Oncol.* **11** 39–51
- Goodsell P.J., M.J. Fowler-Walker, B.M. Gillanders, S.D. Connell, Variations in the configuration of algae in subtidal forests: implications for invertebrate assemblages, *Austral Ecol.***29** (2004) 350–357.
- Govindaraju, Kasivelu & Krishnamoorthy, Karthikeyan & Alsagaby, Suliman & Singaravelu, G & Premanathan, Mariappan. (2015). *IET Nanobiotechnol.***9**. 10.1049/iet-nbt.2015.0001.
- Green DR. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell.*1998; **18**; 94(6): 695-8.
- Grivennikov SI, Greten FR, Karin M (2010) Immunity, Inflammation and Cancer. *Cell* **140**(6):883–899
- Hanahan D, Weinberg RA (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* **100**(1):57–70
- Haydaroglu, A. 2007. Ege Üniversitesi'nde kanser kayıt analizleri: 34134 Olgunun değerlendirmesi. *Türk Onkol Derg*, Cilt 22, Sayı 1, Sayfa(lar) 022-028.
- Heck DE, Vetrano AM, Mariano TM, Laskin JD (2003) UVB light stimulates production of reactive oxygen species: unexpected role for catalase. *J Biol Chem***278**(25):22432–22436
- Hodis E, Watson IR, Kryukov GV, Arold ST, Imielinski M, Theurillat J, et al. (2012) A Landscape of Driver Mutations in Melanoma. *Cell* **150**(2):251–263
- Hoffman D, Hecht SS, Wynder EL (1983) Tumor promoters and cocarcinogens in tobacco carcinogenesis. *Environ Health Perspect***50**:247–257
- Huang X., Y. Xiao, W. Zhang, M. Lang, In-situ formation of silver nanoparticles stabilized by amphiphilic star-shaped copolymer and their catalytic application, *Appl. Surf. Sci.***258** (2012) 2655–2660.
- Jemal A., Bray F., Center M. M., Ferlay J., Ward E. Forman D., (2011), “Global Cancer Statistics”, *CA: Cancer J Clin*,**61**, 69–90.
- Jopp, K. (2003). *Nanotechnologie - Aufbruch ins Reich der Zwerge*, Gabler: Wiesbaden. Karuppaiya, P., Satheeshkumar, E., Chao, W.T., Kao, L.Y.
- Joseph Hyndman, Iain. (2016). Review: the Contribution of both Nature and Nurture to Carcinogenesis and Progression in Solid Tumours. Cancer microenvironment : *Cancer Microenviron***9**. 10.1007/s12307-016-0183-4.
- Kaufmann SH, Gores GJ. Apoptosis in cancer: cause and cure. *BioEssays*, 2000; **22**: 1007-1017.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 1972; **26**(4): 239-57.

- Knoll B., F. Keilmann, Near-field probing of vibrational absorption for chemical microscopy, *Nature***399** (1999) 134–137.
- Konukoğlu, D., Turhan, M. S., 2005. Anjiyogenezin temel moleküler mekanizmaları ve tümör anjiyogenezi. *Cerrahpasa Tıp Derg.*, cilt(sayı) **36**(1).
- Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptosis in hepatitis C. *J Viral Hepatitis*, 2003; **10**: 335-342.
- Kufe DW, Pollock RE, Weichselbaum RR, et al (eds) (2003) Holland-Frei cancer medicine, 6th edn. BC Decker, Hamilton (ON) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12354/>. Accessed 24 February 2015
- Lee, Donghyun & Ko, Wan-Kyu & Hwang, Deok-Sang & Heo, dong nyoun & Jin Lee, Sang & Heo, Min & Lee, Kook-Sun & Ahn, Ji-Yoon & Jo, Junyoung & Kwon, Il Keun. (2016). *Nanoscale Res. Lett.***11**. 381. 10.1186/s11671-016-1586-3.
- Lockshin, R. A., and C. M. Williams. 1965. Programmed cell death. I. Cytology of degeneration in the intersegmental muscles of the pernyi silkworm. *J. Insect Physiol.* **11**:123–133.
- Lockshin, R. A., and Z. Zakeri. 2001. Programmed cell death and apoptosis: origins of the theory. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.***2**:545–550.
- Malvezzi M, Carioli G, Bertuccio P, Boffetta P, Levi F, La Vecchia C and Negri E 2018 European cancer mortality predictions for the year 2018 with focus on colorectal cancer *Ann. Oncol.***29** 1016–22
- Marquardt B, Frith D, Stabel S (1994) Signalling from TPA to MAP kinase requires protein kinase C, Raf and MEK: reconstitution of the signalling pathway in vitro. *Oncogene* **9**(11):3213–3218
- Mata, Rani & Reddy, Jayachandra & Sudha Rani, Sadras. (2016). Colloids and Surfaces B: *Biointerfaces*.**143**. 10.1016/j.colsurfb.2016.03.069.
- Matsumura, Y. ve Maeda, H., (1986). "A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs", *Cancer research*,**46**: 6387-6392.
- Mfouo-Tynga I, Hussein A, Abdel-Harith M, Abrahamse H. (2014). Photodynamic ability of silver nanoparticles in inducing cytotoxic effects in breast and lung cancer cell lines. *Int J Nanomed* **9**:3771–80.
- Mishra, S. and Vinayak, M., 2015. Role of Ellagic Acid in Regulation of Apoptosis By Modulating Novel and Atypical PKC in Lymphoma Bearing Mice, *BMC Complement Altern Med***15** (281), 2-8.
- Mody V.V., R. Siwale, A. Singh, H.R. Mody, Introduction to metallic nanoparticles, *J. Pharm. Bioallied Sci.* **2** (4) (2010) 282–289.

- Montazer M., F. Mohammadi, A. Ali Shamei, M.K. Rahimi, Durable antibacterial and cross-linking cotton with colloidal silver nanoparticles and butane tetracarboxylic acid without yellowing, *Colloids Surf. B: Biointerfaces***89** (2012) 196–202.
- Moore PS, Chang Y (2010) Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat Rev Cancer***10**(12):878–889
- Murugaraj Jeyaraj, Manoharan Rajesh, et al. (2013), An investigation on the cytotoxicity and caspase-mediated apoptotic effect of biologically synthesized silver nanoparticles using Podophyllum hexandrum on human cervical carcinoma cells, *Colloids Surf. B* Vol**102**, Pages 708-717, ISSN 0927-7765,
- Nicholson, D.W. (1999) Caspase structure, proteolytic substrates, and function during apoptotic cell death. *Cell Death Differ*;**6**: 1028-1042
- Ovalı E. Apoptozis. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Güneş Kitabevi, 1999; 197-203.
- Özcan A, Atakışi E. Apoptozisin Biyokimyasal Önemi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2003; **9**(1): 95-100
- Pao W, Girard N (2011) New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol***12**(2):175–180
- Park M, Lee S (2003) Cell Cycle and Cancer. *J Biochem Mol Biol***36**(1):60–65
- Parta, C.R., Bhattacharya, R., Mukhopadhyay, D., & Mukherjee, P. (2010). *Fabrication of gold nanoparticles for targeted therapy in pancreatic cancer, Advanced Drug Delivery Reviews*,**62**, 346–361.
- Parveen, A. & Rao, S. *J Clust Sci* (2015) **26**: 775. <https://doi.org/10.1007/s10876-014-0744-y>
- Polk D, Peek R (2010) Helicobacter pylori: gastric cancer and beyond. *Nat Rev Cancer***10**(6):403–414
- Prof. Dr. Velittin Gürgün, D. D. (1990). *Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri*. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no 7.
- Rabinowitz I LR. Chronic Myeloid Leukemia. 11 th ed. Greer JP FJ, Lukens JN, ed. WINTROBE’S Clinical Hematology. Philadelphia:LWW; 2004.
- Rastogi P.K., V. Ganesan, S. Krishnamoorthi, Microwave assisted polymer stabilized synthesis of silver nanoparticles and its application in the degradation of environmental pollutants, *Mater. Sci. Eng. B* **177** (2012) 456–461.
- Reed JC. Mechanisms of Apoptosis. *Am J Pathol*, 2000; **157**: 1415–1430.
- Reiser SJ. What modern physicians can learn from Hippocrates. *Cancer* 2003;**98**:1555-1558.

- Ribatti, D. 2004. The crucial role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in angiogenesis: a historical review. *BJH*, **128**, 303-309.
- Rivlin N, Brosh R, Oren M, Rotter V (2011) Mutations in the p53 tumor suppressor gene important milestones at the various steps of tumorigenesis. *Genes Cancer* **2**(4):466–474.
- Rohn JL, Noteborn MHM. The viral death effector Apoptin reveals tumor-specific processes. *Apoptosis*. 2004;**9**(3):315-322.
- Roth JA, Nguyen D, Lawrence DD, et al. Retrovirus-mediated wild-type p53 gene transfer to tumors of patients with lung cancer. *Nat Med*. 1996;**2**(9):985-991.
- Rundhaug JE, Fischer SM (2010) Molecular mechanisms of mouse skin tumor promotion. *Cancers (Basel)* **2**(2):436–482.
- Sarioğlu S, Ataman Ş. Apoptoz. *T Klin FTR*, 2003; **3**: 37-44
- Sathishkumar M., K. Sneha, S.W. Won, C.W.S. Cho, Y.S. Kim Yun, Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nanocrystalline silver particles and its bactericidal activity, *Colloids Surf. B: Biointerfaces* **73** (2009) 332–338.
- Seyed Ataollah, Sadat Shandiz & Shafiee Ardestani, Mehdi & Shahbazzadeh, Delavar & Assadi, Artin & Ahangari Cohan, Reza & Asgary, Vahid & Salehi, Soheil. (2016). Novel imatinib-loaded silver nanoparticles for enhanced apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* **45**. 1-10. 10.1080/21691401.2016.1202257.
- Siegel R L, Miller K D and Jemal A 2016 Cancer statistics, 2016 *CA Cancer J Clin.* **66** 7–30
- Skalka, M., Matyasova, J., and Cejkova, M. (1976) DNA in chromatin of irradiated lymphoid tissues degrades in vivo into regular fragments, *FEBS Lett.* **72**, 271–275.
- Skibber, J.M., Minsky, B.D., Hoff, P.M. 2001. Editors; Vincent T. DeVita, Jr., Hellman, S., Rosenberg, S.A. *Cancer Principles & Practice of Oncology* 6th edition. Page 1256.
- Sreekanth V. M., T & Pandurangan, Muthuraman & Hwan Kim, Doo & Rok Lee, Yong. (2016). *J. Clust. Sci.* **27**. 10.1007/s10876-015-0964-9.
- Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA (2009) The cancer genome. *Nature* **458**:719–724.
- Suzuki K, Matsubara H. Recent advances in p53 research and cancer treatment. *J. Biomed Biotechnol.* 2011;**2011**:978312.
- Talbot SJ, Crawford DH (2004) Viruses and tumours – an update. *Eur J Cancer* **40**(13):1998–2005

- Tan, G. Onur, M.A. ve SAĞLAM, N., (2012). "Utilization of gold nanostructures in biomedical applications", *Turk J Biol.* ,**36**: 607-621.
- Terrero, M.N. and Li, S. 2004. Growth factor receptors: targets for gene therapy and immunotherapy for cancer treatment. *Gene Ther Mol Biol* Vol **8**, 175-180.
- Tobelem G. 2007. VEGF: a key therapeutic target for the treatment of cancer- insights into its role and pharmacological inhibition. *Targ Oncol***2**:153-164
- Tomatır AG. *Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü*. T Klin Tıp Bilimleri, 2003; **23**: 499-508.
- Turgut, A. S. (2015). *Akciğer kanserli hastalarda serum VEGF düzeylerinin tam kan ve rutin biyokimya parametreleri ile ilişkisi ve prognostik değeri*. ANKARA: Kadir Has - Cibali | TEDÜ.
- TÜİK, Ölüm Nedeni İstatistikleri, (2015). <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=30626>(on-line access on 26 May. 2019)
- Uma Suganya K.S., Govindaraju K., Ganesh Kumar V., Prabhu D., Arulvasu C., Stalin Dhas T., Karthick V., Niranjan Changmai, *Appl Surf Sci.*, Volume **371**, 2016, Pages 415-424.
- Unno Y., Y. Shino, F. Kondo, N. Igarashi, et al. (2005). *Clin. Cancer. Res.***11**, 4553.
- Wagner V., A. Dullaart, A. K. Bock, and A. Zweck (2006). *Nat. Biotechnol.***24**, 1211.
- Webster T. J. (2006). *Int. J. Nanomedicine*. **1**, 373.
- Weinberg RA (2014) *The biology of cancer*, 2nd edn. Garland Science, New York
- Weinstein IB (1988) The origins of human cancer: molecular mechanisms of carcinogenesis and their implications for cancer prevention and treatment- twenty-seventh G.H.A. Clowes memorial award lecture. *Cancer Res***48**(15):4135–4143
- Whibley C, Pharoah PDP, Hollstein M. p53 polymorphisms: cancer implications. *Nat Rev Cancer*. 2009;**9**(2):95-107.
- Wiley B.J., Y. Sun, Y. Xia, Synthesis of silver nanostructures with controlled shapes and properties, *Acc. Chem. Res.***40** (2007) 1067–1076.
- Yamabe K, Shimizu S, ItoT, et al. Cancer gene therapy using a pro-apoptotic gene, caspase-3. *Gene Ther.* 1999;**6**(12):1952-1959.
- Yokota J (2000) Tumour progression and metastasis. *Carcinogenesis***21**(3):497–503
- Zhang L., F. X. Gu, J. M. Chan, A. Z. Wang, R. S. Langer, and O. C. Farokhzad (2008). *Clin. Pharmacol. Ther.***83**, 761.

Zuckerman, D.S., Clark, J.W. 2008. *Systemic Therapy for Metastatic Colorectal Cancer*.1;**112**(9):1879-91.



7. ÖZGEÇMİŞ

1. Adı Soyadı : SAMET UÇAR

2. İletişim Bilgileri ;

Adres : Paşaköşkü mah. Demokrat sok. Baransel apt.

No 6 Daire 2 Battalgazi / MALATYA

Telefon : +90 545 602 72 29

Mail : sametucar2738@gmail.com

3. Doğum Yılı : 05.05.1992

4. Öğrenim Durumu;

Lisans : Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü (Mezun)

Yüksek Lisans: İnönü Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilimdalı (Mezun)

5. Yer Aldığı Projeler

- 1- Yeni İzole Edilmiş Beyaz Çürükçül Funguslarla Gümüş ve Altın Nanopartiküllerin Biyosentezi: Sitotoksik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması **116Z336 nolu TÜBİTAK Projesi (Bursiyer), Devam ediyor**
- 2- Yeni Benzimidazol Metal Kompleks Bileşiklerinin Akciğer Kanserinin Peritoneal İmplantasyonu Üzerine Olan Sitotoksik Etkisi: *In vivo* Deneysel Çalışma **BAP1294 GÜDÜMLÜ PROJE Devam ediyor**

6. Ulusal ve uluslararası sempozyum, kongre veya konferans bildiri özetleri

- 1- Naima Bennour, Özfer Yeşilada, Ahmed Akroun, Elif Apohan, **Samet Uçar**, Ayşe Görgeç, Hasan Küçükbay, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Efedra alata* from the South of Tunisia, Uluslararası Tıbbi, Aromatik ve Boya Bitkileri Sempozyumu, 5-7 Ekim, Malatya, Turkey (2017).
- 2- Özfer Yeşilada, Elif Apohan, Eray Tatlıcı, **Samet Uçar**, Sema Erdemoğlu, Katı Faz fermentasyonu Sürecinden Elde Edilen *Pleurotus cornucopiae* Özü ile Sentezlenen Altın Nanopartiküllerin Akciğer Kanseri Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik Etkisi, International Euroasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 26-27 April Ankara/Turkey (2018).
- 3- Elif Apohan, Özfer Yeşilada, **Samet Uçar**, Eray Tatlıcı, Mustafa Uçkun, Sema Erdemoğlu, Nanopartiküllerin Çeşitli Kanser Hücre Hatları Üzerine Sitotoksik Etkisi, International Euroasian Conference on Biological and Chemical Sciences, 26-27 April Ankara/Turkey (2018).

7. Seminer

- Sirkadiyan Ritim ve Kanser arasındaki ilişki