



**T. C.**  
**KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KANNABİNOL VE 5-FLUOROURASİL'İN MDA-MB-453 VE HELA HÜCRE HATLARI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Melike ERDURAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KIRŞEHİR-AĞUSTOS/2024**



**T. C.**  
**KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KANNABİNOL VE 5-FLUOROURASİL'İN MDA-MB-453 VE HELA HÜCRE HATLARI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**MELİKE ERDURAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN**

**KIRŞEHİR-AĞUSTOS/2024**

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada tez içerisinde yer alan tüm bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilip sunulduğunu, bu çalışma kapsamında şahsıma ait olmayan tüm beyan ve bilgilerin kaynağını eksiksiz olarak gösterip atıf yaptığımı bildiririm.

Melike ERDURAN

## **TUTANAK**

“Kannabinol ve 5-Fluorourasil’in MDA-MB-453 ve Hela Hücre Hatları Üzerindeki Etkisinin Araştırılması” adlı bu çalışma, 29.08.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

### **Tez Jürisi**

Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURNA SALTOĞLU

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Doç. Dr. Nuray VAROL

Ankara Gazi Üniversitesi

Tıp Fakültesi

## ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen değerli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca tez çalışmamda yardımlarını benden esirgemeyen Seda YALÇINKAYA'a katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim sürecinde gösterdikleri anlayış ve desteklerinden dolayı beni yalnız bırakmayan, her sıkıntıda yanımda olan ablalarım Şerike ÇAKIR ERDURAN ve Rukiye ERDURAN'a, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen anneme ve babama sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Saygılarımla.

**Melike ERDURAN**

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER .....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
TABLO LİSTESİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	xx
ÖZET.....	xxii
ABSTRACT .....	xxiv
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
1.1. Amaç .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>2</b>
2.1. Kanser Biyolojisi.....	2
2.2. Kanserde Metastaz .....	6
2.3. Meme Kanseri .....	9
2.3.1. Meme Kanseri Sınıflandırılması.....	11
2.3.2. Meme Kanseri Epidemiyolojisi .....	14
2.4. Rahim Ağzı Kanseri.....	15
2.4.1. Rahim Ağzı Kanseri Epidemiyolojisi.....	19
2.5. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler .....	20
2.5.1. Kemoterapi .....	21
2.5.2. Radyoterapi .....	23
2.5.3. Cerrahi Tedavi.....	25
2.5.4. Hormonal Tedaviler.....	26
2.5.5. İmmünoterapi .....	28
2.6. Kannabinol .....	29
2.6.1. Kannabinol'ün Biyolojik Aktiviteleri.....	34
2.6.1.1. Sedatif Özellikleri.....	34
2.6.1.2. Anti-inflamatuar Özellikleri. ....	34
2.6.1.3. İştah Uyarımı .....	35
2.6.1.4. Ağrı Giderme .....	35
2.6.1.5. Antibakteriyel Aktivitesi.....	35

2.6.2.	Kannabinol ile Yapılan Çalışmalar .....	35
2.7.	5-Fluorourasil (5-FU).....	37
2.7.1.	5-Fluorourasil'in Etki Mekanizması.....	38
2.8.	Moleküler Kenetlenme (Docking) Çalışmaları .....	42
<b>3.</b>	<b>GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>43</b>
3.1.	Materyal .....	43
3.1.1.	Hücre Hatları .....	43
3.1.2.	Kimyasal ve Reaktifler .....	43
3.1.3.	Makine ve Teçhizat .....	44
3.2.	YÖNTEM.....	44
3.2.1.	Hücre Kültürü.....	44
3.2.1.1.	MDA-MB-453 ve Hela Hücre Hatlarının İki Boyutlu Olarak Geliştirilmesi ....	44
3.2.1.3.	MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının Yara İyileştirme (Migrasyon) Deneyi 46	
3.2.1.4.	MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının İnvazyon Deneyi .....	46
3.2.1.5.	MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının Üç Boyutlu (3B) Geliştirilmesi .....	47
3.2.1.6.	Moleküler Kenetlenme (Docking) Çalışması .....	47
3.2.1.6.1.	Protein Hazırlığı .....	47
3.2.1.6.2.	Ligand hazırlığı .....	48
3.2.1.6.3.	Kenetlenme hesaplaması .....	48
<b>4.</b>	<b>BULGULAR .....</b>	<b>52</b>
4.1.	Bulgular.....	52
4.1.1.	İki Boyutlu MDA-MB-453 Hücre Hattı.....	52
4.1.1.1.	10 µM CBN Sonuçları .....	53
4.1.1.2.	25 µM CBN Sonuçları .....	53
4.1.1.3.	50 µM CBN Sonuçları .....	53
4.1.1.4.	100 µM CBN Sonuçları .....	54
4.1.1.5.	1 µM 5-FU Sonuçları.....	54
4.1.1.6.	5 µM 5-FU Sonuçları.....	55
4.1.1.7.	10 µM 5-FU Sonuçları.....	55
4.1.1.8.	50 µM 5-FU Sonuçları.....	55
4.1.2.	MDA-MB-453 Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları .....	56
4.1.2.1.	25 µM CBN Sonuçları .....	56
4.1.2.2.	50 µM CBN Sonuçları .....	57
4.1.2.3.	100 µM CBN Sonuçları .....	57
4.1.2.4.	5 µM 5-FU Sonuçları.....	58
4.1.2.5.	10 µM 5-FU Sonuçları.....	58
4.1.2.6.	50 µM 5-FU Sonuçları.....	59

4.1.2.7.	100 µM CBN + 1 µM 5-FU Sonuçları.....	59
4.1.2.8.	200 µM CBN + 2 µM 5-FU Sonuçları.....	60
4.1.2.9.	300 µM CBN + 5 µM 5-FU Sonuçları.....	60
4.1.3.	MDA-MB-453 İnvazyon Deney Sonuçları .....	60
4.1.3.1.	25 µM CBN Sonuçları .....	61
4.1.3.2.	50 µM CBN Sonuçları .....	61
4.1.3.3.	100 µM CBN Sonuçları .....	62
4.1.3.4.	1 µM 5-FU Sonuçları.....	62
4.1.3.5.	5 µM 5-FU Sonuçları.....	63
4.1.3.6.	10 µM 5-FU Sonuçları.....	63
4.1.3.7.	100 µM CBN + 1 µM 5-FU Sonuçları.....	63
4.1.3.8.	200 µM CBN + 2 µM 5-FU Sonuçları.....	64
4.1.3.9.	300 µM CBN + 5 µM 5-FU Sonuçları.....	64
4.1.4.	MDA-MB-453 3-Boyutlu Deney Sonuçları .....	65
4.1.4.1.	100 µM CBN Sonuçları .....	66
4.1.4.2.	200 µM CBN Sonuçları .....	66
4.1.4.3.	300 µM CBN Sonuçları .....	66
4.1.4.4.	1 µM 5-FU Sonuçları.....	67
4.1.4.5.	2 µM 5-FU Sonuçları.....	67
4.1.4.6.	5 µM 5-FU Sonuçları.....	68
4.1.4.7.	100 µM CBN + 1 µM 5-FU Sonuçları.....	68
4.1.4.8.	200 µM CBN + 2 µM 5-FU Sonuçları.....	69
4.1.4.9.	300 µM CBN + 5 µM 5-FU Sonuçları.....	69
4.1.5.	İki Boyutlu HeLa Hücre Hattı .....	70
4.1.5.1.	10 µM CBN Sonuçları .....	70
4.1.5.2.	50 µM CBN Sonuçları .....	71
4.1.5.3.	100 µM CBN Sonuçları .....	71
4.1.5.4.	1 µM 5-FU Sonuçları.....	72
4.1.5.5.	2,5 µM 5-FU Sonuçları.....	72
4.1.5.6.	5 µM 5-FU Sonuçları.....	72
4.1.5.7.	10 µM 5-FU Sonuçları.....	73
4.1.5.8.	50 µM 5-FU Sonuçları.....	73
4.1.6.	HeLa Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları .....	74
4.1.6.1.	10 µM CBN Sonuçları .....	74
4.1.6.2.	25 µM CBN Sonuçları .....	75
4.1.6.3.	50 µM CBN Sonuçları .....	75
4.1.6.4.	100 µM CBN Sonuçları .....	76

4.1.6.5.	1 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	76
4.1.6.6.	2,5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	77
4.1.6.7.	5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	77
4.1.6.8.	10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	77
4.1.6.9.	50 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	78
4.1.6.10.	10 $\mu$ M CBN + 1 $\mu$ M 5-FU Sonuçları .....	78
4.1.6.11.	10 $\mu$ M CBN + 5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları .....	79
4.1.6.12.	10 $\mu$ M CBN + 10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları .....	79
4.1.7.	HeLa İnvazyon Deney Sonuçları.....	80
4.1.7.1.	10 $\mu$ M CBN Sonuçları .....	80
4.1.7.2.	25 $\mu$ M CBN Sonuçları .....	81
4.1.7.3.	50 $\mu$ M CBN Sonuçları .....	81
4.1.7.4.	1 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	82
4.1.7.5.	5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	82
4.1.7.6.	10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	82
4.1.7.7.	10 $\mu$ M CBN + 1 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	83
4.1.7.8.	10 $\mu$ M CBN + 5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	83
4.1.7.9.	10 $\mu$ M CBN + 10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	84
4.1.8.	HeLa 3 Boyutlu Deney Sonuçları.....	84
4.1.8.1.	10 $\mu$ M CBN Sonuçları .....	85
4.1.8.2.	25 $\mu$ M CBN Sonuçları .....	86
4.1.8.3.	50 $\mu$ M CBN Sonuçları .....	86
4.1.8.4.	100 $\mu$ M CBN Sonuçları .....	86
4.1.8.5.	2,5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	87
4.1.8.6.	5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	87
4.1.8.7.	10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	88
4.1.8.8.	10 $\mu$ M CBN + 2,5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	88
4.1.8.9.	20 $\mu$ M CBN + 5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları.....	89
4.1.8.10.	30 $\mu$ M CBN + 10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları .....	89
4.1.9.	Moleküler Kenetlenme ve Moleküler Dinamik Simülasyon Çalışmaları.....	90
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>112</b>
<b>6.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>118</b>
	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>120</b>

## **ŞEKİL LİSTESİ**

<b>Şekil 1.1.</b> Kanser Nedenleri .....	3
<b>Şekil 1.2.</b> İyi huylu ve Kötü huylu tümörlerin şematik gösterimi.....	5
<b>Şekil 1.3.</b> Metastazın oluşum basamakları 1: İstila 2: Anjiyogenez 3: İmmüno-supresyon 4: Metastaz .....	7
<b>Şekil 1.4.</b> Tümör mikro çevre için terapötik stratejiler .....	8
<b>Şekil 1.5.</b> İnvaziv duktal karsinom (x10) ile yüksek dereceli duktal karsinom in situ .....	11
<b>Şekil 1.6.</b> İn situ ve invaziv meme kanseri .....	13
<b>Şekil 1.7.</b> Kanser insidansı ve mortalitesi farklı kanser türleri arasında dağılım.....	14
<b>Şekil 1.8.</b> Kadınlarda en sık görülen kanser türleri coğrafi dağılımı.....	14
<b>Şekil 1.9.</b> HPV virüs genleri olan E6 ve E7'nin rahim ağzı kanserindeki etkisi.....	16
<b>Şekil 1.10.</b> Rahim ağzı kanserine neden olan risk faktörleri.....	17
<b>Şekil 1.11.</b> Rahim ve rahim ağzının şematik gösterimi .....	18
<b>Şekil 1.12.</b> Kadınlar arasında en yaygın kanser insidansı .....	19
<b>Şekil 1.13.</b> 2020 rahim ağzı kanseri için bölgeye göre özel insidans ve yaşa standardize edilmiş ölüm oranları .....	20
<b>Şekil 1.14.</b> Çeşitli kanser türlerinde kemoterapi sonucunda verilen klinik yanıtlar .....	22
<b>Şekil 1.15.</b> Kannabinol'ün kimyasal yapısı.....	30
<b>Şekil 1.16.</b> Kenevir bitkisinde fitokanabinoidlerin (örn. CBD, THC, CBN) yaratıldığı biyosentetik ve metabolik yolları .....	31
<b>Şekil 1.17.</b> Kanabinoidler ve reseptörleri. AEA—anandamid; 2-AG—2-araşidonoilgliserol; THC— $\Delta^9$ - tetrahidrokannabinol; CBD—kannabidiol; CBN—kannabinol; CBDV—kannabidivarin .....	32
<b>Şekil 1.18.</b> Kanabinoidlerin kanserin farklı özellikleri üzerindeki etkileri .....	34

<b>Şekil 1.19.</b> MTT tahlili sonucunda CBN'nin iki nöroblastoma hücre hattı üzerinde doza bağlı bir şekilde proliferasyonunu zayıflatmıştır .....	35
<b>Şekil 1.20.</b> CBN HT22 hücrelerinde oksitaoz/ ferroptozu inhibe eder .....	37
<b>Şekil 1.21.</b> 5- Fluorourasil'in kimyasal yapısı .....	37
<b>Şekil 1.22.</b> 5-FU ve floroprimidin yapıları (5'DUMP, 5'FdUTP ve 5'FUTP) .....	39
<b>Şekil 1.23.</b> 5-Fluorourasil metabolizması .....	40
<b>Şekil 1.24.</b> 5-Fluorourasil aktivesinin modülasyonu .....	40
<b>Şekil 2.1.</b> MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının 2D olarak geliştirilmesi.....	45
<b>Şekil 2.2.</b> Kanser hücrelerinin 3B geliştirilmesi.....	47
<b>Şekil 2.3.</b> Protein veri bankası ( <a href="https://www.rcsb.org/">https://www.rcsb.org/</a> ).....	48
<b>Şekil 2.4.</b> Kimyasal moleküllerin veri bankası ( <a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/</a> ).....	49
<b>Şekil 2.5.</b> Moleküler kenetlenme uygulamasından görüntüler.....	50
<b>Şekil 2.6.</b> Moleküler kenetlenme uygulamasından görüntüler.....	50
<b>Şekil 2.7.</b> Moleküler kenetlenme uygulamasından görüntüler.....	51
<b>Şekil 3.1.</b> MDA-MB-453 hücre hattı 20x ve 10x morfolojik görüntüsü .....	52
<b>Şekil 3.2.</b> İki boyutlu olarak geliştirilmiş MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	52
<b>Şekil 3.3.</b> 10 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	53
<b>Şekil 3.4.</b> 25 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	53
<b>Şekil 3.5.</b> 50 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	54
<b>Şekil 3.6.</b> 100 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	54

<b>Şekil 3.7.</b> 1 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	55
<b>Şekil 3.8.</b> 5 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	55
<b>Şekil 3.9.</b> 10 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	55
<b>Şekil 3.10.</b> 50 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	56
<b>Şekil 3.11.</b> Kontrol MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonucu (10X mikroskop görüntüsü).....	56
<b>Şekil 3.12.</b> 25 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü) .....	57
<b>Şekil 3.13.</b> 50 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü).....	57
<b>Şekil 3.14.</b> 100 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü).....	58
<b>Şekil 3.15.</b> 5 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü).....	58
<b>Şekil 3.16.</b> 10 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü).....	59
<b>Şekil 3.17.</b> 50 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü).....	59
<b>Şekil 3.18.</b> 100 $\mu\text{M}$ CBN + 1 $\mu\text{M}$ 5-FU ilacı verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü).....	60
<b>Şekil 3.19.</b> 200 $\mu\text{M}$ CBN + 2 $\mu\text{M}$ 5-FU ilacı verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü) .....	60
<b>Şekil 3.20.</b> 300 $\mu\text{M}$ CBN + 5 $\mu\text{M}$ 5-FU ilacı verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10X mikroskop görüntüsü) .....	61
<b>Şekil 3.21.</b> Kontrol MDA-MB-453 Hücre Hattı İnvazyon Deneyi Sonucu (4x mikroskop görüntüsü) .....	61
<b>Şekil 3.22.</b> 25 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10X mikroskop görüntüsü) .....	62

<b>Şekil 3.23.</b> 50 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	62
<b>Şekil 3.24.</b> 100 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	63
<b>Şekil 3.25.</b> 1 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	63
<b>Şekil 3.26.</b> 5 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	64
<b>Şekil 3.27.</b> 10 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	64
<b>Şekil 3.28.</b> 100 µM CBN + 1 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	65
<b>Şekil 3.29.</b> 200 µM CBN + 2 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deney Sonucu. (10X mikroskop görüntüsü)	65
<b>Şekil 3.30.</b> 300 µM CBN + 5 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	66
<b>Şekil 3.31.</b> Kontrol MDA-MB-453 Hücre Hattı 3Boyutlu Deneyi Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	66
<b>Şekil 3.32.</b> 100 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	67
<b>Şekil 3.33.</b> 200 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	67
<b>Şekil 3.34.</b> 300 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	68
<b>Şekil 3.35.</b> 1 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	68
<b>Şekil 3.36.</b> 2 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	69
<b>Şekil 3.37.</b> 5 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü)	69

<b>Şekil 3.38.</b> 100 µM CBN + 1 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü) .....	70
<b>Şekil 3.39.</b> 200 µM CBN + 2 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü) .....	70
<b>Şekil 3.40.</b> 300 µM CBN + 5 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10X mikroskop görüntüsü) .....	71
<b>Şekil 3.41.</b> İki boyutlu olarak geliştirilmiş HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü) .....	71
<b>Şekil 3.42.</b> 10 µM CBN verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	72
<b>Şekil 3.43.</b> 50 µM CBN verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	72
<b>Şekil 3.44.</b> 100 µM CBN verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	72
<b>Şekil 3.45.</b> 1 µM 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	73
<b>Şekil 3.46.</b> 2,5 µM 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	73
<b>Şekil 3.47.</b> 5 µM 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	74
<b>Şekil 3.48.</b> 10 µM 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre Hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	74
<b>Şekil 3.49.</b> 50 µM 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre Hattı (4x mikroskop görüntüsü).....	75
<b>Şekil 3.50.</b> Kontrol HeLa Migrasyon Deney Sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).....	75
<b>Şekil 3.51.</b> 10 µM CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	76
<b>Şekil 3.52.</b> 25 µM CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	76
<b>Şekil 3.53.</b> 50 µM CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	77
<b>Şekil 3.54.</b> 100 µM CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	77

<b>Şekil 3.55.</b> 1 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	77
<b>Şekil 3.56.</b> 2,5 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	78
<b>Şekil 3.57.</b> 5 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları(10x mikroskop görüntüsü) .....	78
<b>Şekil 3.58.</b> 10 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).....	79
<b>Şekil 3.59.</b> 50 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	79
<b>Şekil 3.60.</b> 10 $\mu\text{M}$ CBN + 1 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	79
<b>Şekil 3.61.</b> 10 $\mu\text{M}$ CBN + 5 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	80
<b>Şekil 3.62.</b> 10 $\mu\text{M}$ CBN + 10 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) .....	80
<b>Şekil 3.63.</b> Kontrol HeLa Hücre Hattı İnvazyon Deneyi Sonucu (4x mikroskop görüntüsü).....	81
<b>Şekil 3.64.</b> 10 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).....	81
<b>Şekil 3.65.</b> 25 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).....	82
<b>Şekil 3.66.</b> 50 $\mu\text{M}$ CBN verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).....	82
<b>Şekil 3.67.</b> 1 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).....	82
<b>Şekil 3.68.</b> 5 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).....	83
<b>Şekil 3.69.</b> 10 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü) .....	83
<b>Şekil 3.70.</b> 10 $\mu\text{M}$ CBN + 1 $\mu\text{M}$ 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonucu (4x mikroskop görüntüsü).....	84

<b>Şekil 3.71.</b> 10 µM CBN + 5 µM 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonucu (4x mikroskop görüntüsü) .....	84
<b>Şekil 3.72.</b> 10 µM CBN + 10 µM 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonucu (4x mikroskop görüntüsü) .....	85
<b>Şekil 3.73.</b> Kontrol HeLa Hücre Hattı 3Boyutlu Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	86
<b>Şekil 3.74.</b> 10 µM CBN verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	86
<b>Şekil 3.75.</b> 25 µM CBN verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	87
<b>Şekil 3.76.</b> 50 µM CBN verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	87
<b>Şekil 3.77.</b> 100 µM CBN verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	88
<b>Şekil 3.78.</b> 2,5 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	88
<b>Şekil 3.79.</b> 5 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	89
<b>Şekil 3.80.</b> 10 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	89
<b>Şekil 3.81.</b> 10 µM CBN + 2,5 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	90
<b>Şekil 3.82.</b> 20 µM CBN + 5 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü) .....	90
<b>Şekil 3.83.</b> 30 µM CBN + 10 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).....	91

## **TABLO LİSTESİ**

<b>Tablo 1.1.</b> Meme kanseri moleküler alt tiplerinin sınıflandırılması .....	10
<b>Tablo 1.2.</b> Kannabinol'ün varsayılan reseptör hedefleri ve terapötik özellikleri .....	32
<b>Tablo 1.3.</b> CBN ve CBV'nin İyon Kanalı Aktivitesi .....	36
<b>Tablo 3.1.</b> Çalışmada kullanılan kimyasal ve reaktifler.....	43
<b>Tablo 3.2.</b> Çalışmada kullanılan makine ve teçhizatlar .....	44
<b>Tablo 3.3.</b> CBN ve 5-FU maddelerinin hücreler için doz optimizasyonu .....	46
<b>Tablo 4.1.</b> Protein ve ligandlar arasındaki bağlanma enerjileri (kcal/mol) .....	92
<b>Tablo 4.2.</b> Protein ve ligand arasındaki en yüksek bağlanma enerjisinin programlar arasında karşılaştırılması .....	94
<b>Tablo 4.3.</b> Protein ve ligand arasındaki en düşük bağlanma enerjisinin programlar arasında karşılaştırılması .....	94
<b>Tablo 4.4.</b> CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.....	95
<b>Tablo 4.5.</b> Serbest ikinci ligandın protein-ligand kompleksine bağlanma enerjisi ile ligandın tek bağlanma enerjisinin karşılaştırılması .....	107

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

AEA	Anandamid
BL-1	Bazal benzeri-1
BL-2	Bazal benzeri – 2
BRCA1	Meme kanseri tip 1 duyarlılık proteini
BRCA2	Meme kanserine yatkınlık genleri
CBC	kannabikromen
CBD	Kannabidiol
CBN	Kannabinol
CH2THF	5,10-metilen tetrahidrofolat
DPD	Dihidroprimidin dehidrojenaz
DCIS	Duktal Karsinom In Situ
ECS	Endokannabinoid sistem
EMT	Epitelyal-mezenkimal geçiş
ER <sup>+</sup>	Östrojen Reseptörü
FDG-PET	Floro- 2- deoksi- D- glikoz pozitron emisyon tomografisi
FdUMP	Florodeoksiüridin monofosfat
FUR	Floroüridin
FUMP	Floroüridin monofosfat
FUDP	Florouridin difosfat
FUTP	Florouridin trifosfat
FuUTP	Florodeoksiüridin trifosfat
FUDR	Florodeoksiüridin
GPR55	G-protein bağlı reseptör 55
HER2 <sup>-</sup>	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
HIV	İnsan bağışıklık eksikliği virüsü
HPV	İnsan papilloma virüsü
IDC	İnvaziv Duktal Karsinom
IFN	İnterferonlar

IGRT	Görüntü Rehberliğinde Radyoterapi
IM	İmmünomodülatör
IMRT	Yoğunluk Aracılı Radyoterapi
ILC	İnvaziv Lobüler Karsinom
LAR	Lüminal androjen reseptörü
LV	Lökovorin
MTX	Metotreksat
MSL	Mezenkimal kök hücre benzeri
NK	Doğal öldürücü
OPRT	Orotat fosforiboziltransferaz
PALB-2	BRCA2'nin ortağı
PR <sup>+</sup>	Progesteron Reseptörü
PRPP	Fosforibozil pirofosfat
RR	Ribonükleotit redüktaz
TGF- $\beta$	Transforme edici büyüme faktörü- $\beta$
THC	$\Delta$ 9 tetrahidrokanabinol
TNM	Tümör, nod, metastaz
TNBC	Üçlü negatif meme kanseri
TP	Timidin fosforilaz
TRPV1	Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı-1
TRPV2	Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı-2
TRPV3	Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı-3
TRPV4	Geçici reseptör potansiyeli katyon kanalı-4
TRPM8	Geçici reseptör potansiyel katyon kanalı alt ailesi M üyesi 8
TS	Timidilat sentaz
UDG	Urasil-DNA- glikozilaz
UK	Üridin kinaz
UP	Üridin fosforilaz
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
2B	2 Boyutlu
3B	3 Boyutlu
3D-CRT	3 Boyutlu Konformal Radyoterapi
5-FU	5-Fluorourasil

## **ÖZET**

### **YÜKSEK LİSANS TEZİ**

#### **KANNABİNOL VE 5-FLUOROURASIL'İN MDA-MB-453 VE HELA HÜCRE HATLARI ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Melike ERDURAN**

**Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN**

Bu çalışma, MDA-MB-453 ve HeLa hücre hatlarında CBN (kannabinol) ve 5-FU(5-fluorourasil)'un sitotoksik, morfolojik ve moleküler etkisi incelenmesini hedeflemekte olup diğer çalışmalarda kanser ilaçlarının geliştirilmesine ön çalışma niteliği taşımaktadır. Kanser hem dünyada hem de ülkemizde kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci ölüm sebebi olması açısından önemli bir toplum sağlığı problemidir ve beraberinde taşıdığı fiziksel rahatsızlıkların yanı sıra sosyal, maddi ve manevi yönleri ile mücadelesi zor bir hastalıktır.

Kanser tedavisinde ameliyat, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli tedavi yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Fakat bu tedaviler ileri seviye kanser hastalarında metastaz gerçekleştikten sonra tam bir çözümü olduğu söylenemez. İlaç tedavisi uygulamaları da tek başına çözüm değildir. İlaç tedavisi ile hastalarda ilaç direnci de ortaya çıkmaktadır. Kanserde ilaç direnci, tedavinin başarısız olmasına neden olabilir. Bu nedenle hastalığı anlamak ve buna yönelik tedavi yöntemleri geliştirmek önemlidir. Son zamanlarda bitkilerin, kanser hücrelerini nasıl etkilediğine yönelik araştırmalar yapıлып, farklı tedavi yöntemleri bulmak amaçlanmaktadır.

Yapılan çalışmalar sonucunda bitkiler ve bileşikleri hakkında detaylı bilgi edinilebilmesi için daha çok araştırma yapılması ve bilinmeyen özelliklerinin ortaya çıkarılması

gerekmektedir. Biz bu araştırmada, bitkilerin ve bu bitkinin ilaç ile kullanılmasıyla birlikte MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ve HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı üzerinde etkilerini incelemeyi amaçladık. İlaçların hücre hatları üzerinde etkisini belirlenmek için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Migrasyon ve invazyon deneyi sonuçlarına baktığımızda CBN ve 5-FU maddelerinin hücre hatları üzerine tek başına metastazı değişen düzeylerde engellediği kombinasyon halinde ise hücrelerin ölüm ile sonuçlanmasına neden olmuştur. 3B olarak geliştirilmiş hücre hatlarına uygulanan maddelerin 48 saat içinde 3B yapılarının dağılmasına neden olmuştur.

Moleküler kenetleme çalışmalarına göre belirlenen proteinlerin CBN ile olan moleküler kenetleme sonuçlarına göre bağlanma enerjilerinin -5.83 kcal/mol ile -50.7 kcal/mol arasında olduğu belirlenmiştir. Diğer ilacımız olan 5-FU ilacı ile proteinler arasında olan moleküler kenetleme sonuçlarına göre bağlanma enerjilerinin -3.4 kcal/mol ve -24.1 kcal/mol arasında olduğu belirlenmiştir. İlaçlar arasında kurulan H bağları ve bağlanma enerjisi dikkate alınarak yapılan değerlendirmede CFLAR proteini ile CBN bileşiği ve 5-FU ilacı ile birlikte en iyi kanser aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Eylül 2024, 159 Sayfa.

**Anahtar Kelimeler:** Kanser, Meme kanseri, Rahimağzı kanseri, Kannabinol, 5-Fluorourasil

## **ABSTRACT**

### **MASTER'S THESIS**

#### **INVESTIGATION OF THE EFFECT OF CANNABINOL AND 5- FLUOROURACIL ON MDA-MB-453 AND HELA CELL LINES**

**Melike ERDURAN**

**Kırşehir Ahi Evran University**

**Health Sciences Institute**

**Department Of Medical Biology**

**Supervisor: Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN**

This study aims to examine the cytotoxic, morphological and molecular effects of CBN (cannabinol) and 5-FU (5-fluorouracil) on MDA-MB-453 and HeLa cell lines and serves as a preliminary study for the development of cancer drugs in other studies. Cancer is an important public health problem as it is the second cause of death after cardiovascular diseases both in the world and in our country, and it is a difficult disease to combat with its social, material and spiritual aspects, as well as the physical disorders it carries with it.

Various treatment methods such as surgery, chemotherapy and radiotherapy are used in cancer treatment. However, these treatments cannot be said to be a complete solution for advanced cancer patients after metastasis occurs. Medication alone is not a solution either. Drug resistance also occurs in patients with drug treatment. Drug resistance in cancer can cause treatment failure. Therefore, it is important to understand the disease and develop treatment methods for it. Recently, research has been conducted on how plants affect cancer cells and it is aimed to find different treatment methods.

As a result of the studies carried out, more research needs to be done and unknown properties to be revealed in order to obtain detailed information about plants and their compounds. In this study, we aimed to examine the effects of plants and the use of this plant with drugs on the MDA-MB-453 breast cancer cell line and HeLa cervical cancer cell line. Optimization studies were carried out to determine the effect of drugs on cell lines. When we look at the results of migration and invasion experiments, CBN and 5-FU drugs alone prevented metastasis on cell lines at varying levels, but in combination caused the

cells to die. Drugs applied to 3D-developed cell lines caused the 3D structures to disintegrate within 48 hours.

According to the molecular docking results of the proteins determined according to molecular docking studies with CBN, the binding energies were determined to be between -5.83 kcal/mol and -50.7 kcal/mol. According to the molecular docking results between our other drug, 5-FU, and proteins, the binding energies were determined to be between -3.4 kcal/mol and -24.1 kcal/mol. In the evaluation made by taking into account the H bonds and binding energy established between the drugs, it was determined that CFLAR protein showed the best cancer activity together with CBN and 5-FU drugs.

September 2024, 159 Pages.

**Keywords:** Cancer, Breast cancer, Uterine cancer, Cannabinol, 5-Fluorouracil

## 1. GİRİŞ

Kanser, normal hücrelerin kontrolsüz çoğalarak tümör hücrelerine dönüşmesi ile çok aşamalı bir süreç olarak ortaya çıkan hastalıktır. Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapi ilaçları, sağlıklı hücreler üzerinde toksik bir etkiye neden olmaktadır. Bu etkiye baktığımızda ilaçlarla tek başına tedavi pek mümkün görülmemektedir. Bu yüzden son zamanlarda şifalı bitkilerden elde edilen bileşikler öne çıkmaktadır. Kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkisi olan ve son birkaç yılda araştırmalarda çok fazla öne çıkan kenevir özünden elde edilen Kannabinol bileşiği kanser tedavisi için umut verici bir çözüm niteliğindedir. Yapılan çalışmalar sonucunda Kannabinol'un birçok kanser tipinde kötü huylu hücreleri öldürdüğü ve bunun yanında ise tümörleri çevreleyen normal hücreleri etkilememe olasılığı ile koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (1).

### 1.1. Amaç

Çalışmamızın 3 ana amacı vardır;

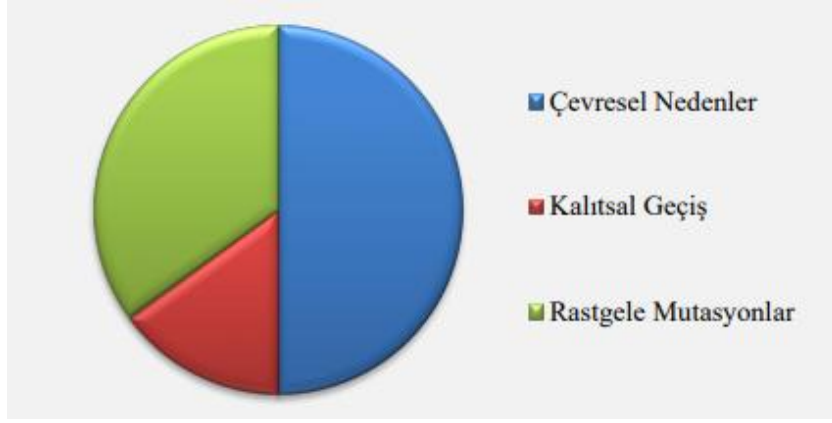
- Kannabinol bileşiğinin iki boyutlu (2D) ve üç boyutlu (3D) geliştirilmiş meme kanseri ve rahim ağzı kanseri hücrelerinde etkisinin incelenmesi (in vitro)
- Kannabinol bileşiği ile 5-Fluorourasil ilacının tek tek ve birlikte meme kanseri ve rahim ağzı kanseri hücrelerine verilerek etkisinin karşılaştırmalı olarak bakılması
- Kannabinol bileşiğinin moleküler kenetleme programı ile muhtemel ilaç olma potansiyelinin incelenmesi

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Kanser Biyolojisi**

Günümüzde kanser dünya çapında en önemli sağlık problemlerinden biri haline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından rapor edilen verilere göre ölümlerin %13'ü kanser kaynaklıdır. 2020 verileri yaklaşık 10 milyon ölümün yani neredeyse altı ölümden birinin kanser nedeniyle olduğu belirlenmiştir. En sık görülen kanserler meme, akciğer, kolon ve rektum ile prostat kanserleridir. Bu kanserler ülkeler arasında farklılık göstermekte olsa da rahim ağzı kanseri 23 ülkede en sık görülen kanser türü haline gelmiştir. Meme kanseri ise son 5 yılda en yaygın kanser türü haline gelmiştir. Kanser kaynaklı ölümler genellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde daha çok görülmekle birlikte tütün kullanımı, alkol tüketimi, sağlıksız beslenme, yaş, fiziksel hareketsizlik, hava kirliliği ve bazı kronik enfeksiyonlar kanser oluşmasına neden olmaktadır (2).

Kanser genellikle somatik hücrelerin DNA'sında meydana gelen genetik değişiklikler ile hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve çoğalması sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu çoğalma ile hücrelerin büyümesini ve çoğalmasını kontrol eden mekanizmalarda meydana gelen bozukluklar aşırı hücre bölünmesine neden olur ve kanser oluşur. Kanser vakalarının %90-95'inin dış etkenlere, %5-10'unun ise hücre döngüsünün düzenlenmesi, hücre sinyal yolları ve hücre farklılaşmasında meydana gelen genetik aksaklıklarla ilişkili olduğu rapor edilmiştir (3). Ailesinde kanser geçmişi olan kişilerde genetik mutasyonlar sonucu kalıtsal olarak geçmesi çok yüksek ihtimaldir. Genellikle sigara içmek, zararlı kimyasallara maruz kalmak, alkol tüketimi, sağlıksız beslenme, hava kirliliği, radyasyona maruz kalmak vb. gibi çevresel faktörler kanser riskini artırabilir.



**Şekil 1.1.** Kanserin nedenleri.

Kansere neden olan faktörler sonucunda hücrenin normal formundan tümör hücresi şekline geçmesine neoplastik transformasyon denir. Kimyasallar ve radyasyon gibi karsinojenlere maruz kalma sonucunda kanserleşme görülmektedir. Bu kanserleşme iki geniş gen grubunda ki mutasyonlarla ilgilidir: protoonkogenler ve tümör baskılayıcı (ing.suppressor) genler. Proto-onkogenler normal büyümeyi uyaran sinyallerin yokluğunda hücre büyümesini uyarma yeteneğine sahiptir. Bu genler mutasyonla onkogenlere dönüşerek büyümenin teşvik edilmesinde genin aşırı aktif olmasına neden olurlar. Tümör baskılayıcı genler ise normal büyümeyi sınırlar. Mutasyon ile inaktive olduğu durumda, olağan dışı hücre bölünmesi gerçekleşir (4).

Tümörlerin sınıflandırılması iki şekilde yapılır. Kötü huylu (ing. malignant) tümörler ve iyi huylu (ing. benign) tümörler. Kötü huylu (malign) tümörler, kanser hastalığının ana nedenidir ve tedavi edilemezse ciddi sağlık sorunlarına yol açabilir. Kötü huylu tümörler, vücutta farklı bileşenler sonucu ortaya çıkabilir ve bu bölümlere göre farklı isimler alabilirler (5).

Karsinom: Epitel dokulardan yani endodermden ya da ektodermden köken alan malign tümörlerdir. Kanserin %90'ını karsinomlardan oluşur. Genellikle deri, meme, akciğer ve bağırsak gibi iç ve dış organların yüzeylerinde meydana gelirler. Karsinomlar, belirli bir vücut yapısı ve organa bağlı olarak farklı görünümlere sahiptir. Kanserin türüne ve ilerlemesine bağlı olarak farklılık gösterir. Karsinomlar iki ana tipe ayrılır; Skuamöz Hücre Karsinomu, epitelyal görüldüğünden skuamöz bölgeden ayrılır. Skuamözle cildin yüzeylerinde, ciltte ve mukoza zarlarında bulunurlar. Genellikle cilt, ağız, yemek borusu ve akciğerler gibi yerlerde görülür. Adenokarsinom ise, epitelyal açıdan bezden görünüşten ayrılır. Adenokarsinomlar genellikle meme, prostat, pankreas, akciğerler,

kolon ve rektum gibi organlarda ortaya çıkar. Karsinomlar, tanısı için bakteriler ve görüntüleme testleri gibi tıbbi testlerle teşhis edilebilir. Tedavisi için cerrahi müdahale, radyoterapi, hedefe yönelik tedavi, immünoterapi gibi tedavi türleri kullanılmaktadır (6).

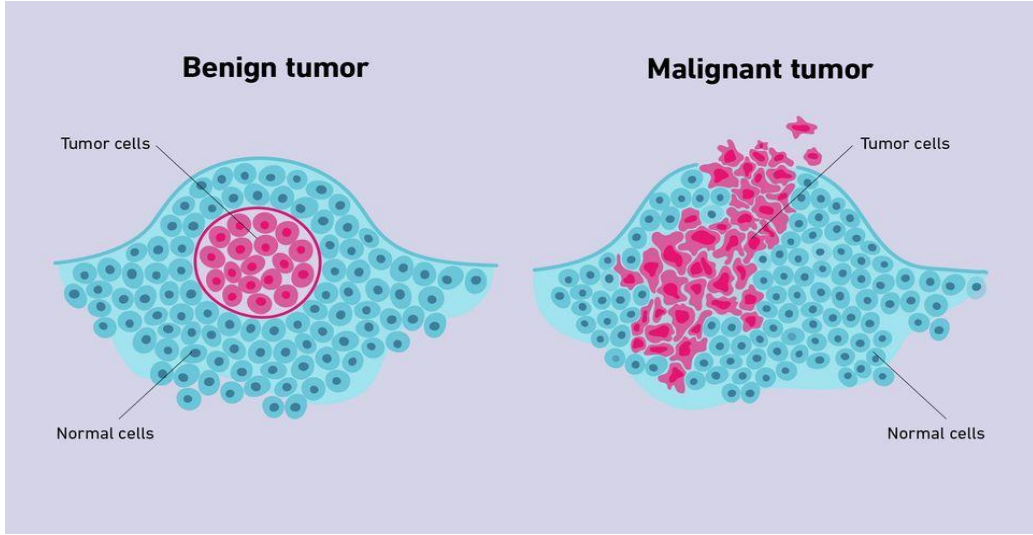
Sarkomlar (Sarkan Tümörler): Vücudun farklı dokularından köken alan, genellikle bağ dokusu, kas dokusu, kemik dokusu veya yağ dokusu gibi dokularda görülmektedir. İki ana kategoriye ayrılır; yumuşak doku sarkomları ve kemik sarkomları. Genellikle kemik, kas, kıkırdak ve bağ dokusu gibi yapılarda meydana gelir. Nadir görülen bir kanserdir ve genellikle yetişkinlerde değil, çocuklarda ve genç yetişkinlerde daha yaygın görülür. Sarkomlar tedavi edilirken genellikle kişileştirilmiş bir tedavi planı gerekmektedir. Çünkü her sarkom türü farklı tutulabilir. Erken teşhis ve tedavi prognozunu önemli ölçüde iyileştirebilir (7).

Lenfomalar: Kötü huylu sarkomların bir diğer tipi olan lenfomalar, lenf sistemindeki kanserin değişmesi, anormal bir şekilde büyüyen bir kanser türüdür. Lenf sistemi, lenf düğümleri, lenf bezleri, dalak, kemik iliği lenf damarlarını içerir. Lenfoma bu organlardan herhangi bir yerinde meydana gelebilir. Lenfomalar iki temel türde sınıflandırılır; birincisi Hodgkin lenfoma, özel kanser hastalığı olan Reed-Sternberg sistemi ile değişir ve genellikle lenf düğümlerinde başlar, ikincisi Non-Hodgkin Lenfoma, Hodgkin olmayan tüm lenfoma türlerini kapsayan bir hastalıktır. Tanı ve tedavi, lenfoma türü, evrenin ve yaşamın genel sağlık performansına bağlı olarak değişmektedir (7).

Lösemiler: Sarkomların özel bir sınıfı olan lösemiler, kandaki alyuvarlar, lökositler ve trombositler gibi kan kökenli malign tümörlerdir. Tedavisi, kaybın türü, evresine ve sağlık performansına bağlı olarak değişir. Tedavi seçenekleri arasında hedefe yönelik tedaviler, kemik iliği nakli ve radyasyon tedavisi bulunabilir (7).

İyi huylu (benign) tümörler ise, vücutta genellikle yerel olarak büyürler ve kalıcı dokulara yayılırlar. Bu nedenle malign tümörlerden farklıdırlar. Özellikle yaşlı bireylerde sıklıkla görülen çoğu bölgesel ve küçük boyutlu olduklarından dolayı küçük risk oluştururlar. Uzun süre boyunca belirti göstermezler. Eğer çevresindeki dokulara baskı yapılmaya başlanırsa ağrı, şişlik, basınç hissi, sızıntı sorunları gibi belirtiler oluşmaya başlar. İyi huylu tümörlere en iyi örnek siğillerdir. Teşhisi ve tedavisi için ultrasonografi, bilgisayarlı tomografi veya manyetik rezonans görüntüleme gibi

prosedürlerle yapılır. Tedavi, tümörün türüne, boyutuna, yerine ve durumuna göre değişiklik gösterebilir. Biyopsi tümörün oluşumunu ve kökenini belirlemek için alınan örnektir. Sonuç olarak iyi huylu tümörler daha az endişe veren ve genellikle tedavi edilebilen tümörlerdir (8).



Şekil 1.2. İyi huylu ve Kötü huylu tümörlerin şematik gösterimi (9).

Günümüzde kanser teşhisi yapılırken en çok tercih edilen yöntem TNM (tümör, nod, metastaz) kullanılmaktadır. TNM, kanserin ne kadar yayıldığını ve hangi evrede olduğunu gösteren bir yöntemdir. Bu yöntem ile tümörün büyüklüğü ve bulunduğu yer belirlenir, daha sonra tümörün lenf nodlarına yayılma durumu ve en sonunda da kanserin vücutta metastaz ile yayılma durumu incelenir. Bu tespitler sonucunda ise kanserin hangi evrede olduğu belirlenmektedir. Kanser evreleri, hangi tedavi seçeneklerinin kullanılması gerektiğini ve prognozunu belirlemede önemlidir. Evreleme işlemi ise, klinik ve patolojik olabilmektedir. Klinik evreleme, hastalığın planlanmasında ve prognoz tahminine yardımcı olur. Bu evrelemede, tıbbi öykü, fiziksel muayene, görüntüleme testleri ve diğer klinik bulgular temelinde yapılır. Patolojik evreleme ise, kanserin ne kadar ilerlediğini ve yayıldığını, cerrahi olarak çıkarılan doku veya tümörlerin patolojik incelenmesi ile kullanılan yöntemdir. Bu evreleme sonucunda, kanserin aşaması belirlenir. Genel olarak kanserin evreleme aşamaları;

**Evre 0**, kanser çevre dokulara yayılmamış ve büyüdükleri dokularda sınırlıdır. Bu evrede kanser, genellikle yerel olarak cerrahi operasyon ile çıkarılabilir ve tedavi edilebilmektedir.

**Evre 1**, küçük tümörleri ifade etmektedir. Genellikle kanserin başladığı dokuda büyümüş fakat yakın bölgelere ve lenf düğümlerine yayılım göstermemiştir. Bu aşamada tedavi başarılıdır.

**Evre 2**, kanserin başladığı dokuda büyümüş ve yakındaki lenf düğümlerine yayılım göstermiştir. Bu evrede tedavi daha karmaşık olabilir. Ancak tedavi olasılıkları yüksektir.

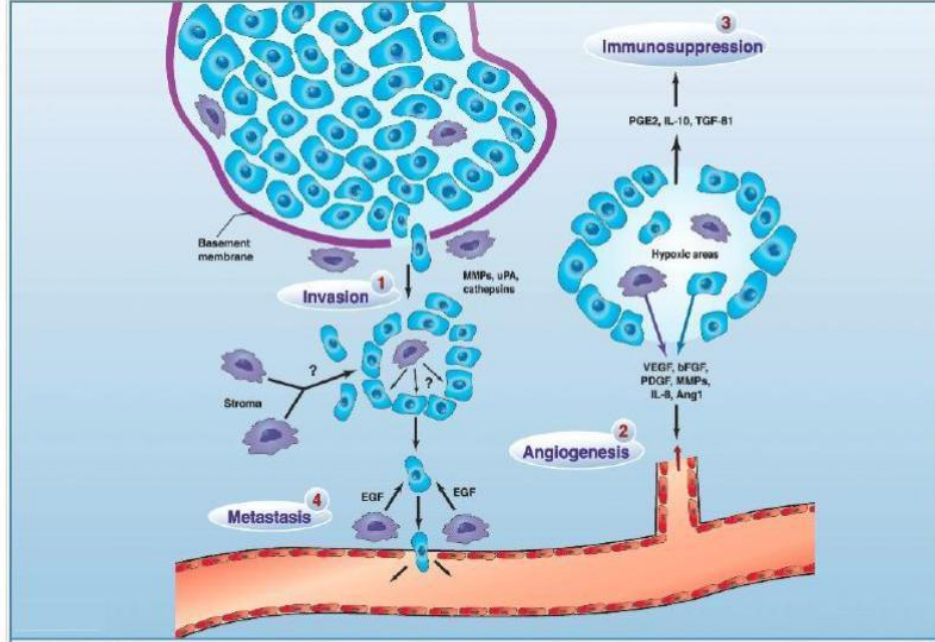
**Evre 3**, kanser hücreleri genişlemiş ve çevre dokulara veya daha uzak lenf düğümlerine yayılım göstermiştir.

**Evre 4**, kanserin vücutta diğer organlara (örneğin, karaciğer, akciğer, kemikler veya beyin gibi) yayılım gösterdiği evre olarak tanımlanmaktadır. Bu aşamada kanser hücreleri uzak bölgelere metastaz yaparak yayılmıştır. Tedavi seçenekleri sınırlı sayıdadır. Bu evrede artık hastanın kontrollünü sağlamak amaçlanır (10).

## **2.2.Kanserde Metastaz**

Kanser hücreleri birincil tümörden başlayıp, dolaşımında hayatta kalarak uzak organlara yayılmasını içeren karmaşık sürece kanser metastazı adı verilir. Bir metastazın oluşması için, kan ve lenf düğümlerine girmiş olan kanser hücrelerinin dolaşımında hayatta kalması, hedef organlara ulaşması (tohumlanma), organın içine sızması ve kalıcı olarak büyüme göstermesi gerekir (11) (Şekil 1.3). Kanser hücrelerinin yayılım göstermesinde epitelyal-mezenkimal geçiş (EMT) süreci E-kaderin ekspresyonunda azalma, N-kaderin ekspresyonunda artış görülmesi en önemli aşamalardan biridir. Tümör hücrelerini besleyerek yeni damarların oluşumu sırasında transforme edici büyüme faktörü- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi moleküller aracılığıyla anjiyogenez sağlarlar. Diğer yandan transmembran reseptörlerinden olan integrin gibi moleküllerin ekspresyonlarında yaptıkları değişiklikler ve selektin gibi moleküller yoluyla trombositleri kendilerine kalkan görevi gibi kullanarak dolaşımdaki immün sistem hücrelerinden ve apoptozdan kaçmayı başarırlar. Daha sonra ikincil organın damar sistemine ulaşır proteazlar salgılayarak metastaz oluşmaya başlar (12). İkincil organlara ulaşan tümör hücreleri yüksek oksidatif stres, destekleyici büyüme faktörleri veya besin eksikliği ve dokuya özgü makrofajlar, doğal öldürücü (NK) hücreler, sızan T hücreleri ve diğer bağışıklık gözetim mekanizmaları şeklindeki aktif düşman bağışıklık savunmaları ile ortadan kaldırılır. Hayatta kalan

yayılmış tümör hücreleri hareketsiz hale girebilir. Klinik görüntülemelerde yayılmış tümör hücreleri her zaman tespit edilemez. Bu yüzden hastalar bu hastalığın farkında değildir. Tümör büyüdüğünde, organların düzgün çalışmasını engelleyebilir ve vücudun genel fonksiyonlarını bozarak ölümlle sonuçlanabilir (13).



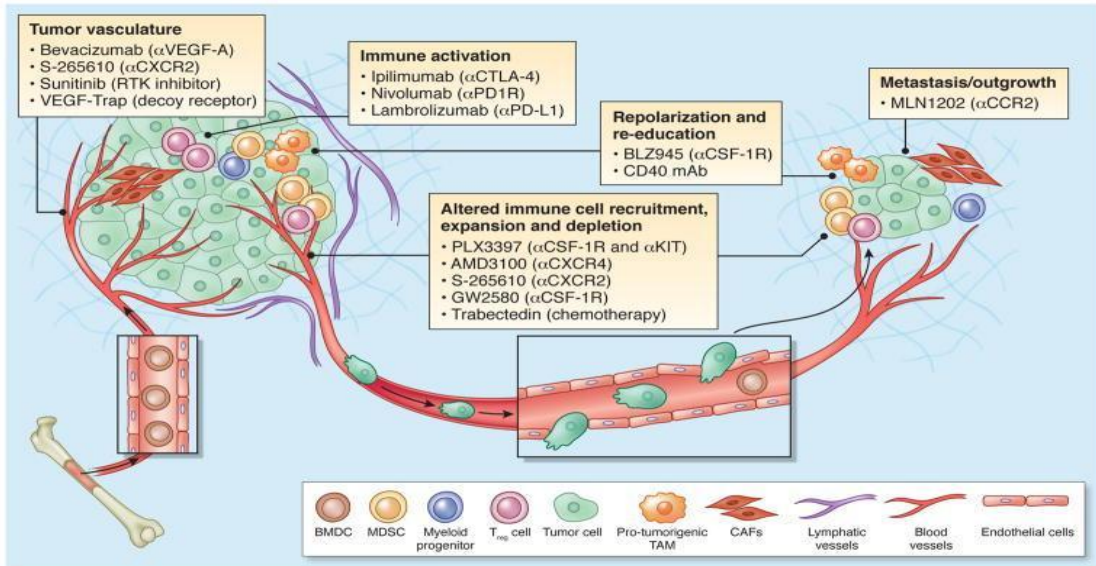
**Şekil 1.3.** Metastazın oluşum basamakları 1: İstila 2: Anjiyogenez 3: İmmünosupresyon 4: Metastaz (14).

Kanserde metastaz 'tohum ve toprak' hipotezi, kanser hücrelerinin birincil tümörden ayrılarak vücudun farklı bölgelerine yayılma sürecini açıklamak için kullanılan bir benzetmedir. Bu hipotez kanserin yayılmasını ve ikincil tümörlerin oluşumunu anlamak için kullanılır. Tohum; kanser hücrelerinin temelini temsil eder. Birincil tümörden başlar ve yayılım göstererek vücutta dolaşıma geçer. Tohum aşamasında kanser hücreleri ikincil bölgelere yayılmamış ancak yayılma potansiyelleri vardır. Toprak ise, vücudun diğer bölgelerini temsil eder. Her bölge veya organ, kanser hücrelerinin tutunup büyüebilmesi için farklı bir toprak oluşturur. Bu o bölgenin doku yapısı, kan damar ağı, bağışıklık sistemi tepkisi ve diğer faktörleri içerir (15).

Birçok kanser türü için metastaza dördüncü evre kanser de denilmektedir. Lenfatikler ve kan damarları, kanser türleri (lenf düğümleri, karaciğer, akciğer, kemik iliği ve beyin) genellikle ortak metastatik organlara hücre tohumlamasının birincil yoludur. Genetik ve epigenetik değişimlerin kombinasyonu ve konakçı mikro çevresindeki çeşitli hücre ortamlarıyla etkileşimler, kanser hücresinin hayatta kalmasını ve

büyümesini belirler (16). Kanser hücreleri onkogenlerdeki ve tümör baskılayıcı genlerdeki mutasyonlar nedeniyle buldukları dokulardaki kısıtlamaları kaybetmiştir. Bu nedenle kontrolsüz çoğalma ile diğer dokulara yayılım gösterir. Örneğin, meme kanseri hücreleri meme dokusundan ayrılarak kemiklere, akciğere, karaciğere veya diğer organlara yayılabilir. Ancak kanser hücreleri birincil tümörden ayrıldıktan sonra diğer dokulara hemen yerleşmeyebilir. Bunun yerine lenf düğümlerine ve kemik iliğine yayılım gösterebilir (16). Yerel mikro çevre, metastazın her aşamasında önemli bir role sahiptir. Birincil tümör bölgesinde olduğu gibi kemik iliğinden türetilen hücrelerin toplanması metastatik hücrenin ilerlemesi açısından çok önemlidir. Kanser hücrelerinin damar içine girdikten sonra ikincil tümörde metastaz yapmaları için bir dizi hız sınırlayıcı adım vardır ve bu hücrelerin tümör oluşturma yeteneklerini etkilemektedir (11).

Kanser ölümlerin %90'ından sorumlu olan metastaz döngüsünün kırılması kanser tedavisi için büyük öneme sahiptir. Metastaz basamakları ile hücre adezyon molekülleri ve hücreler arası bağlantı proteinlerinin kanser metastazına yönelik tedavilerin geliştirilmesi ve hastanın yaşam süresinin artırılması için hedef olarak kullanılması gerekmektedir (12) (Şekil 1.4.).



Şekil 1.4. Tümör mikro çevre için terapötik stratejiler (15).

Son yıllarda kanser gelişimindeki gelişmeler bu sürecin moleküler ve hücrel temellerinin anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydetmiştir. Bu nedenle araştırmacılar

mikro dizileme analizlerinden yararlanarak metastazı ve metastaza sebep olan genlerin tanımlanmasını sağlayacak deneysel yöntemler kullanmışlardır (17).

### **2.3.Meme Kanseri**

Kadınlarda görülen en sık kanser türlerinden biri haline gelen meme kanseri, en önemli ölüm nedenlerinden biri olması nedeniyle tüm dünyada giderek artan bir sağlık sorunu haline gelmiştir (18). Meme kanseri, lobül adı verilen süt üretim bezlerinde ve lobülleri meme ucuna bağlayan kanallar içeren meme dokusunda başlar. Memenin geri kalanı yağlı, bağ ve lenfatik dokulardan oluşur (19).

Her 4 kadından 1'ine meme kanseri teşhisi konulmaktadır. Evreleri incelendiğinde ise vakaların %48,2'sinin lokalize evrede tanı konduğu görülmektedir (20). Genellikle yaş, aile öyküsü, obezite, alkol kullanımı, radyasyona maruz kalma, üreme geçmişi, tütün kullanımı, gen mutasyonları gibi nedenler meme kanseri riskini artıran durumlardır. Bazı kalıtsal yüksek penetranslı gen mutasyonları meme kanseri riskini büyük ölçüde artırmaktadır. Kansere neden olan en baskın BRCA1, BRCA2 ve PALB-2 genlerinde meydana gelen mutasyonlardır (23). BRCA1 ve BRCA2 genleri meme kanseri gelişimini engelleyen tümör supresör genlerdir. Bu hastalarda meme kanserinin oluşma ihtimali BRCA1 mutasyonu varlığında %72 iken BRCA2 mutasyonu varlığında %69'dur (21). Bu genlerdeki mutasyonlar otozomal olarak kalıtılır ve penetransı yüksektir. Genellikle çerçeve kayması şeklinde mutasyonlar sonucu anlamsız ve işlevsiz protein sentezlenmektedir. Bu genlerdeki mutasyon sonucu kanser gelişme riski 10 kat artmaktadır. BRCA1 genindeki mutasyon ile üçlü negatif meme kanseri (TNBC), BRCA2 ise HER2<sup>-</sup>, ER<sup>+</sup> ve PR<sup>+</sup> tipindedirler (22).

Meme kanseri belirtileri arasında göğüste ağrısız şişlik ve kalınlaşma, memenin boyutunda ve şeklinde değişiklik, ciltte çukurlaşma, meme ucunu çevreleyen deride değişiklik, anormal veya kanlı sıvı gelmesi yer almaktadır. Bu gibi şikayetler olması durumunda uzman doktora başvurulması kanserin erken evrelerde tanı konulmasına yardımcı olmaktadır. Meme kanserleri vücudun diğer bölgelerine de yayılım gösterebilir. Zamanla akciğerler, karaciğer, beyin ve kemiklere doğru yayılır ve bu bölgelerde kemik ağrısı veya baş ağrısı gibi belirtilere neden olabilmektedir (23). Meme kanserinde koltuk altı metastazlarının varlığı ve sayısı en önemli biyobelirteçlerdir. Yapılan bir araştırmada, nodal metastazı olmayan ve tedavi edilmemiş hastaların

%30'unun daha sonra hastalığın tekrarladığı ancak nodal tutulumu olan hastaların %50'sinin lokal tedavi ile iyileştiği belirlenmiştir (24). Diğer kriterler ise tümör boyutu ve tümör derecesidir (25). Son zamanlarda meme kanseri erken teşhisi için bu biyobelirteçler hastalar için yeterli olmamaya başlamıştır (26).

Moleküler ve histolojik kanıtlara dayanarak meme kanseri üç gruba ayrılmaktadır;

- Meme kanserini eksprese eden hormon reseptörü (östrojen reseptörü (ER<sup>+</sup>) veya progesteron reseptörü (PR<sup>+</sup>)),
- Meme kanseri eksprese eden insan epidermal reseptörü 2 (HER2<sup>+</sup>),
- Üçlü negatif meme kanseri (TNBC) (ER<sup>-</sup>, PR<sup>-</sup>, HER2<sup>-</sup>).

TBNC ise kendi içinde altı gruba ayrılmaktadır; bazal benzeri-1 (BL-1), bazal benzeri – 2 (BL-2), immünomodülatör (IM), mezenkimal (M), mezenkimal kök hücre benzeri (MSL) ve lüminal androjen reseptörü (LAR) (26).

**Tablo 1.1.** Meme kanseri moleküler alt tiplerinin sınıflandırılması (26).

<b>Luminal A</b>	ER veya PR (+) ve HER2 (-) K <sub>67</sub> < % 14
<b>Luminal B</b>	ER veya PR (+) ve HER2 (-) K <sub>67</sub> ≥ % 14
<b>Bazal Benzeri, Üçlü (Triple) Negatif</b>	ER/PR/HER2 (-)
<b>HER2</b>	ER/PR (-) ve HER2 (+)
<b>Normal Meme Benzeri</b>	Eptelyal Olmayan Hücre Gen Ekspresyonu (+)

Meme kanserinin başlama mekanizması kesin değildir. En yaygın türü HER2'yi ifade eden meme kanseridir. Bu kanser türü en çok gelişmiş ülkelerde vakaların %60-70'ini oluşturan yalnızca menopoz öncesi kadınlarda görülmektedir. Bu nedenle en sık kullanılan tedavi hormonterapisidir. Üçlü negatif meme kanseri ise en zor olan türüdür. Bu grup hastalar için genellikle kemoterapi tedavisi uygulanmaktadır (26).

#### MDA-MB-453 Hücre Hattı

MDA-MB-453 bir insan meme kanseri hücre dizisidir. 1976 yılında 48 yaşındaki bir kadının malign plevral efüzyonundan elde edilen MDA-MB-453 meme kanseri hücre dizisidir. Bu hücre hattı moleküler apokrin karsinom steroid reseptör profili sergiler;

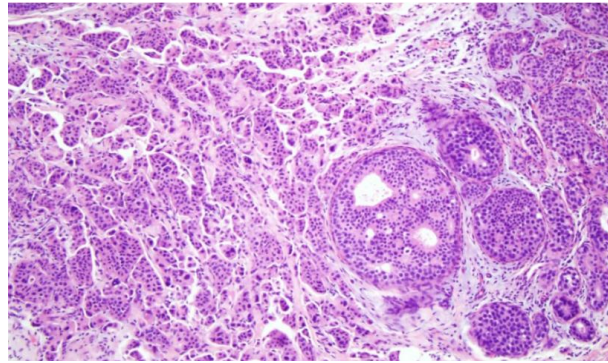
ER<sup>-</sup> negatif, PR<sup>-</sup> negatif ve AR<sup>+</sup> pozitif özellik gösterir. Hücre hattının temel özelliği, androjenlere yanıt olarak artan proliferasyon, flutamid gibi anti-androjenler tarafından bloke edilebilmesidir. Memenin invaziv apokrin karsinomlarının önemli bir kısmını karakterize etme eğilimindedir (27).

### 2.3.1. Meme Kanseri Sınıflandırılması

Meme kanseri, meme dokusundan başlayan kanser türüdür ve çeşitli türleri vardır. Meme dokusundaki epitel hücrelerden (karsinom), salgı bezlerinden (adenokarsinom) veya nadirde olsa memedeki bağ dokusu, kas ya da yağ dokusundan (sarkom) kaynaklanabilmektedir (28).

1.Histopatolojik Sınıflandırma: Meme kanserinde prognozun belirlenmesi ve tedavi stratejisinin saptanması için tümörün derecesi, boyutu, lenf nodüllerinin durumu, hormon reseptörleri ve HER2 durumu gibi birçok klinikopatolojik değişken dikkate alınmaktadır (29).

1.1.Duktal Karsinom In Situ (DCIS): DCIS, kanser tedavisi sadece meme kanallarında yer alan bir aşamadır ve çevre dokulara invazif olmayan bir meme kanseri türüdür. DCIS invaziv meme kanserinin öncüsü olduğu düşünülmektedir. Bu aşamada kanser dokusunun bütünü içine dağılmıştır. Hastaların yarısında en önemlisi BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarında genetik bir yatkınlığı vardır. Duktal karsinoma in situ ele gelen bir kitle olmadan ortaya çıkar ve tarama mamografileri yoluyla bulunmaktadır. Mamografilerde kümelenmiş makrokalsifikasyonun görülmesi DCIS için yaygındır. DCIS hastanın özel tanısı tercihlerine göre kişiselleştirilmiş cerrahi, radyasyon tedavisi ve hormon tedavisinin bir kombinasyonunu içerir (30).



**Şekil 1.5.** İnvaziv duktal karsinom (x10) ile yüksek dereceli duktal karsinom in situ (30).

1.2.İnvaziv Duktal Karsinom (IDC): İnvaziv duktal karsinomların çoğu göz ile (makroskobik olarak) görülebilen, kirli beyaz renkte, sert kıvamlı tümöral lezyonlardır. Meme kanserinin en yaygın türlerinden biridir. İnvaziv terim olarak meme dokusundan özgür bir şekilde çevre dokulara yayıldığını ifade eder. Memenin çeşitli yerlerinde tespit edilebilir ve meme muayenesi ve görüntüleme testleri (mamografi, ultrason, manyetik rezonans görüntüleme) ile teşhis edilmektedir. Sert bir kitle şeklinde meme dokusunda belli olmaktadır. Tedavi seçenekleri arasında cerrahi müdahale, radyoterapi, hormon tedavisi ve hedefe yönelik tedaviler bulunabilir. Erken tanı çok önemlidir ve erken teşhis edilen hastalarda prognozu genellikle daha iyidir (31).

NST (Özel bir türü yok, scirrhous, simpleks) %80

Medüller karsinom %4

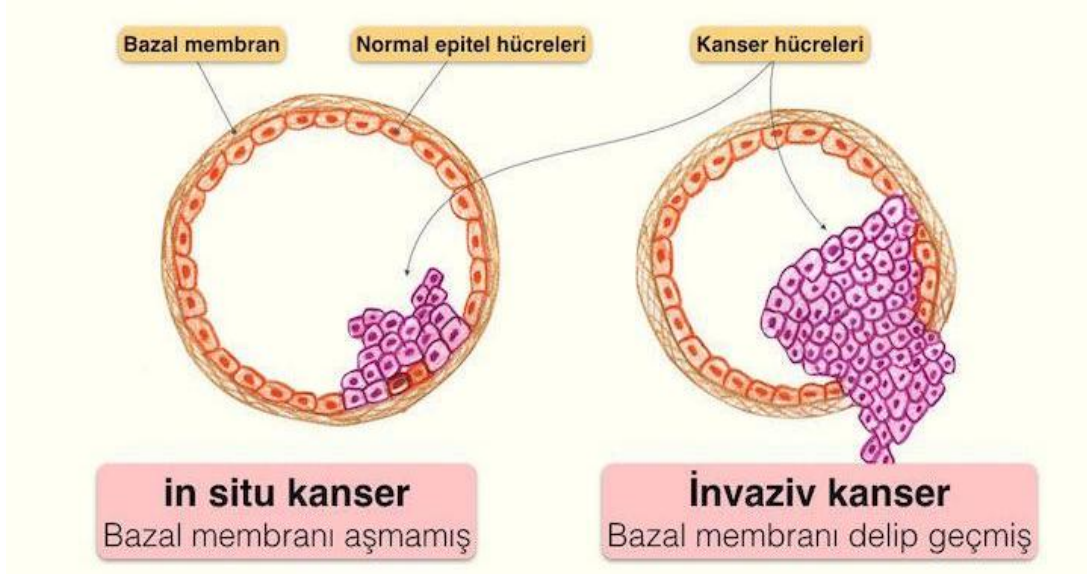
Müsinöz (kolloid) karsinom, %2

Papiller karsinom %2

Tübüler karsinom %2

Kribiriform karsinom

1.3.İnvaziv Lobüler Karsinom (ILC): Meme dokusunun içine yayılan ve kanser hücrelerinin lobüller olarak bilinen meme bezlerinin içine yayılım gösteren meme kanseri türüdür. İlk kez 1941 yılında Foot ve Stewart tarafından tanımlanmıştır. Aynı bir kitle oluşturmak yerine meme dokusunda kalınlaşma şeklinde görünmektedir. Diğer kanser türleriyle benzer olduğundan dolayı teşhisi zor olabilmektedir (32). Memenin diğer yerlerine yayılım gösterdiği için agresif kanser türü olarak kabul edilir. Meme kanseri teşhisi konulduktan sonra patologlar tarafından kanser hücrelerinin doku örneğinin incelenmesi sonucu teşhis edilmektedir. Genellikle cerrahi, radyasyon terapisi, kemoterapi veya hormon tedavisi ile tedavi edilmektedir. Tedavisi, kanserin evresine, boyutuna ya da diğer faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. İnvaziv duktal karsinomdan sonra en sık görülen ikinci histolojik türüdür ve tüm meme kanserlerinin %5-15'ini oluşturmaktadır (33).



**Şekil 1.6.** İn situ ve invaziv meme kanseri (34).

2.Hormon Reseptör Durumu: Meme kanserli hücrelerin östrojen reseptörleri (ER) veya progesteron reseptörleri (PR) taşıyıp taşımadığını belirlemek için yapılan bir tıbbi test sonucu olarak önem taşımaktadır. Hormon reseptörleri pozitif veya negatif olarak sınıflandırılır (35).

Östrojen Reseptör Pozitif (ER<sup>+</sup>): Kanser hücreleri östrojen hormonu alabilir.

Progesteron Reseptörü Pozitif (PR<sup>+</sup>): Kanser hücreleri progesteron hormonu alabilir.

HER 2 Pozitif: Kanser hücreleri HER2 (İnsan Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü 2) adı verilen bir proteini fazla üretir.

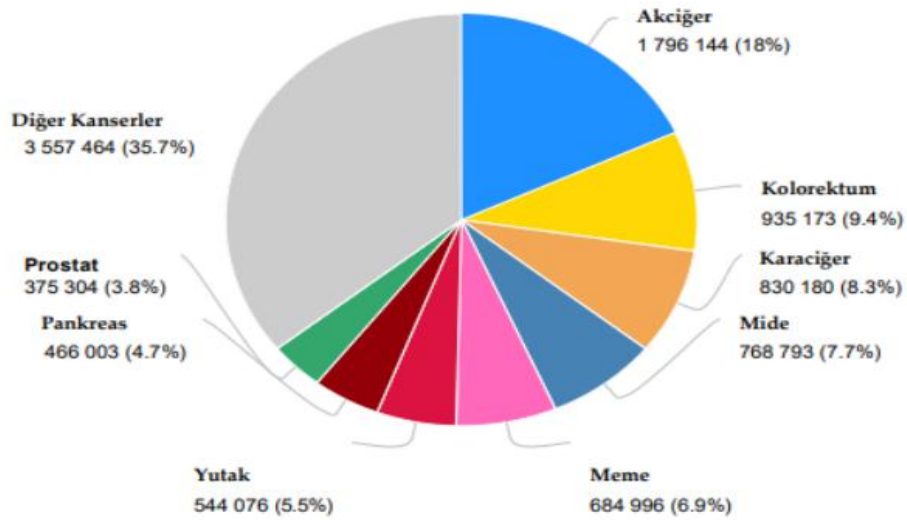
Triple Negatif: Kanser hücreleri NE (ER<sup>-</sup>, PR<sup>-</sup>, HER2<sup>-</sup>) olarak sınıflandırılır ve bu reseptörlere tepki vermez (36).

3.Evreleme: Bu evrede kanserin ne kadar büyük olduğu, lenf düğümlerine yayılıp yayılmadığını ve uzak organlara metastaz yapıp yapmadığı belirlenir. Evreleme genellikle I'den IV'e kadar sıralanır.

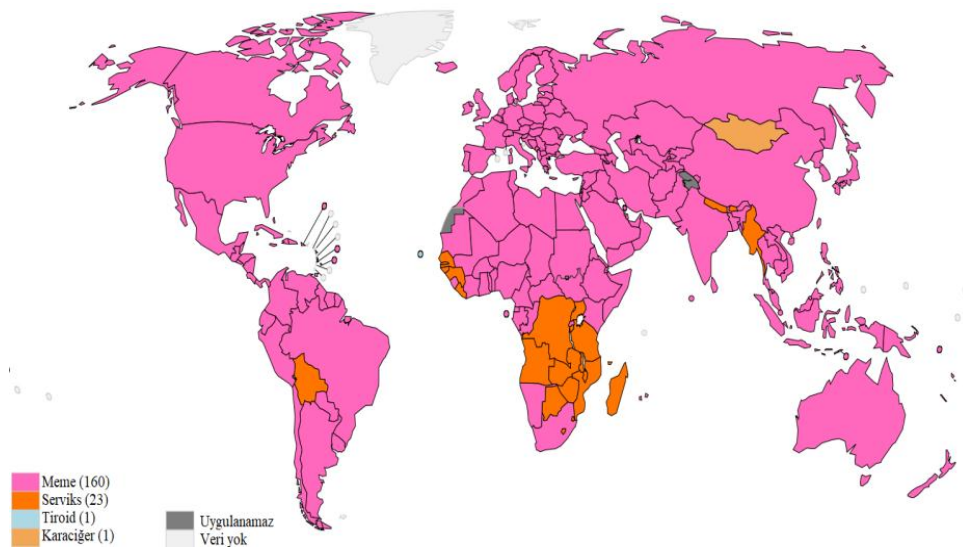
4.Genetik Sınıflandırma: Bazı meme kanserleri genetik sınıflandırma olarak sınıflandırılır. Özellikle BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları meme kanseri riskini artırabilir.

### 2.3.2. Meme Kanseri Epidemiyolojisi

Meme kanseri, 2020 yılında dünya çapında 2,3 milyon yeni teşhis konulmuş ve 685.000 ölüm yaşanmıştır. (23). Eğitim, ekonomik durum, yaş, beslenme, yaşam tarzı, çevre koşulları ve diğer kültürel uygulamalardaki farklılıklar dünya genelinde meme kanserine neden olmaktadır. Yapılan araştırmalara göre her 4 kadından biri meme kanserine, 8 kadından biri de meme kanseri hastalığı nedeniyle hayatını kaybetmektedir. İleri yaşta kadınlar da görülme olasılığı daha yüksek olan meme kanseri 2018 yılında menopoz öncesi ve menopoz sonrası 1.4 milyon vaka tespit edilmiştir (37).



Şekil 1.7. Kanser insidansı ve mortalitesi farklı kanser türleri arasında dağılım (23).



Şekil 1.8. Kadınlarda en sık görülen kanser türleri coğrafi dağılımı (38).

Kadın cinsiyeti en güçlü meme kanseri risk faktörüdür. Meme kanserlerinin yaklaşık %0,5-1'i erkeklerde görülmektedir. Meme kanseri tedavisi kadınlarda olduğu gibi erkeklerde de aynı şekli uygulanmaktadır. Dünyanın her ülkesinde ergenlikten sonra her yaşta görülebilmektedir ve ilerleyen zamanlarda bu oran giderek artmaktadır (23). Küreselleşme ve büyüyen ekonomi nedeniyle, yüksek gelirli ülkelerde meme kanseri vakalarının düşük gelirli ülkelere göre daha sık görüldüğü belirlenmiştir.

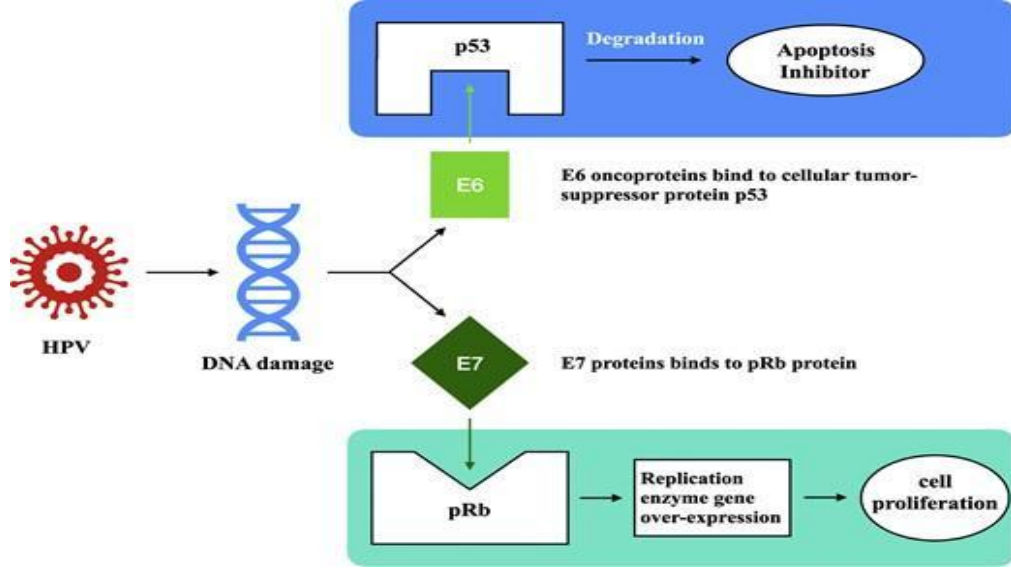
Türkiye'de meme kanseri vaka sayısı bakımından dünyada ikinci sırada yer almaktadır. Ancak ülkemizde kadınlar arasında en sık görülen (46,6 / 1000.000) kanser türüdür. Bununla birlikte ülkemizde 2020 yılında 11 binden fazla insanın meme kanseri nedeniyle hayatını kaybettiği görülmektedir (38). Yapılan bir çalışmada Türkiye'de batı bölgesinin doğu bölgesine kıyasla 2 kat fazla meme kanseri tanısı konulduğu tespit edilmiştir. Bu durumun nedeni, her iki bölgedeki kadınların eslenme ve yaşam tarzı farklılıkları, emzirme sürelerinin farklı olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (39).

Amerikan Kanser Derneği'ne göre, 2040 yılına kadar kanser vakalarının 28,4 milyon olacağı düşünülmektedir. Bu varsayım 2020 kanser yükü ile karşılaştırıldığında yaklaşık olarak %47 bir artış olacağını göstermektedir. Ulusal Kanser Kayıt Programı 2018 kayıtlarına göre Hindistan'da meme kanseri rahim ağzı kanserini geçtiği ve yaklaşık 1.62.468 yeni meme kanseri vakası tespit edilmiştir. Batı dünyasına kıyasla Hindistan'da meme kanseri genellikle genç nüfusta daha sık görüldüğü belirlenmiştir (37).

#### **2.4.Rahim Ağzı Kanseri**

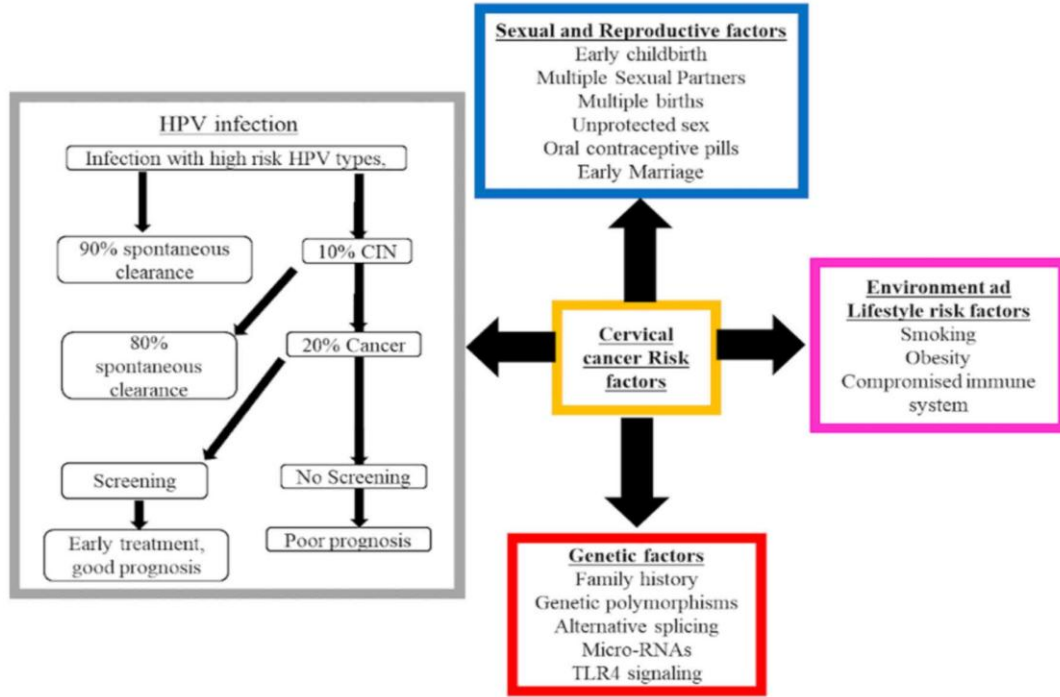
Dünya çapında kadınlarda en çok görülen ve dördüncü sırada yer alan rahim ağzı kanseri, 2020 yılında 604.000 yeni vaka görülmüştür. Rahim ağzı kanserinden kaynaklanan yaklaşık %90'ı düşük ve orta gelirli ülkelerde meydana gelen 342.000 ölüm meydana gelmiştir. Kanserin ana nedeni insan papilloma virüsü (HPV)'dür. HPV üreme sisteminde görülen viral enfeksiyondur ve neredeyse tüm rahim ağzı kanseri vakaları HPV enfeksiyonuna bağlanmaktadır. HPV enfeksiyonlarının çoğu kendi kendine düzelebilmektedir. Ancak HPV enfeksiyonunun kronik hale gelmesi ve kanser öncesi lezyonların invaziv rahim ağzı kanserine ilerleme riski vardır. Normal bağışıklığı olan bir kadında kanserin görülmesi 15 ya da 20 yılı alırken, tedavi edilmemiş HIV enfeksiyonu olan kadınlarda 5 ila 10 yılda görüldüğü bulunmuştur (40).

E6 ve E7 HPV viral onkojenleri, HPV ile indüklenen rahim ağzı kanserinin oluşmasına yardımcı olmaktadır. Enfekte olmuş kadınlarda, viral DNA konakçı hücrenin genomuyla birleşir ve lezyon oluşumuna neden olur ve kanser oluşumu başlar. Aynı zamanda E6 ve E7 proteinleri p53 etkisini de inhibe ederek hücre apoptozuna engel olur. (41).



Şekil 1.9. HPV virüs genleri olan E6 ve E7'nin rahim ağzı kanserindeki etkisi (42).

HPV enfeksiyonu dışında gen mutasyonları, sigara kullanımı, yüksek doğum sayısı, sürekli hormonal kontraseptif kullanımı, ko- enfeksiyon, katran bazlı vajinal hijyenik ürünler, biyokütle yakan sobalardan solunan duman gibi diğer faktörlerde rahim ağzı kanserinin oluşmasına neden olmaktadır. Bunların dışında Chlamydia trachomatis ve Herpes simpleks virüsü tip-2 ile birlikte enfeksiyonun, bağışıklık sisteminin baskılanmasının ve beslenme zorluklarının da rahim ağzı kanserine neden olduğu bulunmuştur (43).

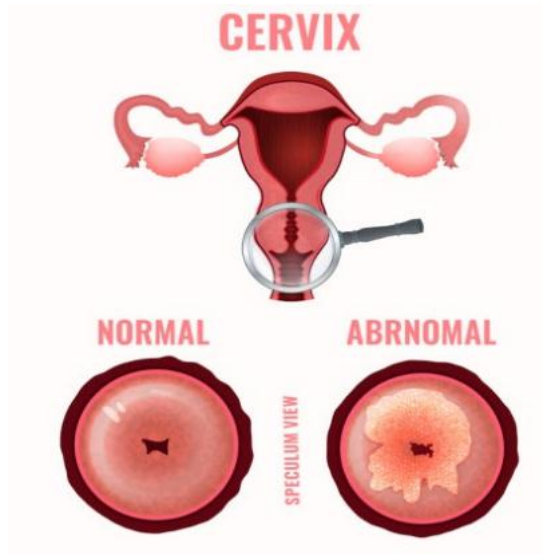


Şekil 1.10. Rahim ağzı kanserine neden olan risk faktörleri (43).

Rahim ağzı kanseri, en yaygın malign tümörlerden biridir. Hastaların %13'üne ileri evrede tanı konulmaktadır. Metastatik rahim ağzı kanseri genellikle ölüm ile sonuçlanmaktadır. Metastatik rahim ağzı kanserinde sağkalım %16,5 iken lokalize rahim ağzı kanserinde bu oran %91,5'tir. Metastatik rahim ağzı kanserinin tedavisi ve hayatta kalma oranlarına göre iki tip metastaz olduğu bulunmuştur. Bunlar hematojen metastaz ve lenfatik metastaz. Hematojen metastazı olan hastalarda ölüm riski yüksek iken lenfatik metastaz hastası olanlarda bu oran daha düşüktür. Hastasında pelvik organlarının dışındaki etkilenen bölgelerin tümü herhangi bir lenf nodu ise metastazın türü lenfatik metastazdır. Hematojen metastaz ise nadir görülmektedir. En sık akciğerleri, kemiği, karaciğeri, beyni ve diğer bölgelere yayılım göstermektedir. Floro-2- deoksi- D- glikoz pozitron emisyon tomografisi (FDG-PET) ve PET bilgisayarlı tomografi metastazların tanısı için kullanılan iki yöntemdir (44).

Rahim ağzı kanseri erken aşamalarda genellikle belirti vermemektedir. İlerleyen süreçlerde vajinal kanama, pelvik ağrı, vajinal akıntı veya bağırsak alışkanlıklarında görülen değişikliklerle de ortaya çıkmaktadır. En sık görülen semptom vajinal kanamadır. Bu kanama, adet dönemi dışında veya menopoz dönemlerinde meydana gelmektedir. Rahim ağzı kanseri ilerlediğinde, pelvik bölgede ağrıya yol açabilir. Bu ağrının artması büyük bir risk faktörüdür. Bunun dışında vajinal akıntıda kanlı, irinli ya da özel koku gibi değişikliklere neden olmaktadır (42).

Rahim ağzı kanseri tanısı için Pap smear testi kullanılmaktadır. 1950 yılından itibaren Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere gelişmiş ülkelerde Pap smear ile önemli ölçüde azalma görülmektedir. Geleneksel Pap smear testini sitolojik oda koşulları, profesyonel teknisyenler, örnekleme yöntemi, boyama becerileri gibi faktörler doğruluğunu etkilemektedir. Pap testi rahim ağzındaki anormal oluşumların tespit edilmesine yardımcı olur. Kanser varlığının kesin olarak onaylanması için rahim ağzı biyopsisi alınır. Tespit edilmesinden sonra tedavisinde rahim ağzı kanserinin evresine, olgunlaşmasına, genel sağlık bakımına ve diğer faktörlere bakılır. Tedavi genellikle cerrahi müdahale ile başlar ve radyoterapi eklenir (45).



Şekil 1.11. Rahim ve rahim ağzının şematik gösterimi (46).

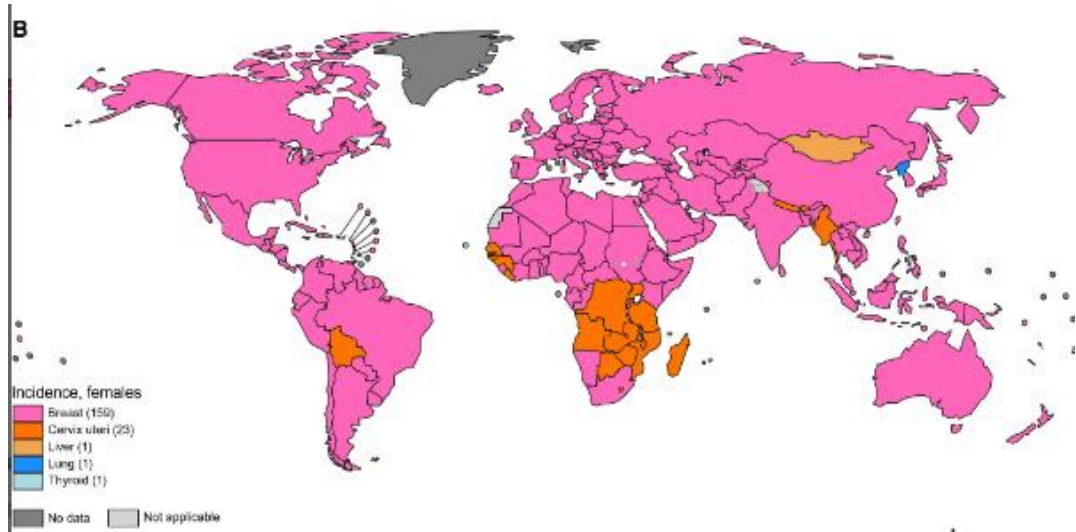
HeLa Hücre Hattı: HeLa hücre dizisi, Henrietta Lacks adlı bir rahim ağzı kanseri hastasının tümöründen elde edilen ilk insan hücre hattıdır. Henrietta Lacks 1951'de kanserden ölmesine rağmen, HeLa hücre hattı kültürde sürekli olarak çoğaltılmış ve biyomedikal araştırmalarda en yaygın kullanılan insan hücre dizilerinden biri haline gelmiştir (47).

Bu hücreler, diğer kanser hücrelerine kıyasla bile anormal derecede hızlı çoğalırlar. Diğer birçok kanser hücresi gibi, HeLa hücreleri de telomeraz enziminin aktif bir versiyonuna sahiptir. Telomerler sürekli kopyalanmaktadır ve bu yaşlanmaya ve hücre ölümüne neden olan telomerlerin giderek kısalmasını önler. Böylelikle sınırsız hücre bölünmesi ve ölümsüzlüğe sahip bir hücre hattı meydana gelir. HeLa hücreleri karyotipik olarak yüksek derecede anormal ( $4n = 82$ ) ve sitolojik olarak farklı markör kromozomları taşır. Fenotipik olarak epitel görünümündedirler. Hızla büyür ve temas

inhibisyonu eksikliği gösterir. HeLa hücreleri çocuk felci aşısının geliştirilmesi, HPV ve rahim ağzı kanseri arasındaki ilişkinin belirlenmesi, telomerazın rolü gibi birçok çalışmaya konu olmuştur. (48).

#### 2.4.1. Rahim Ağzı Kanseri Epidemiyolojisi

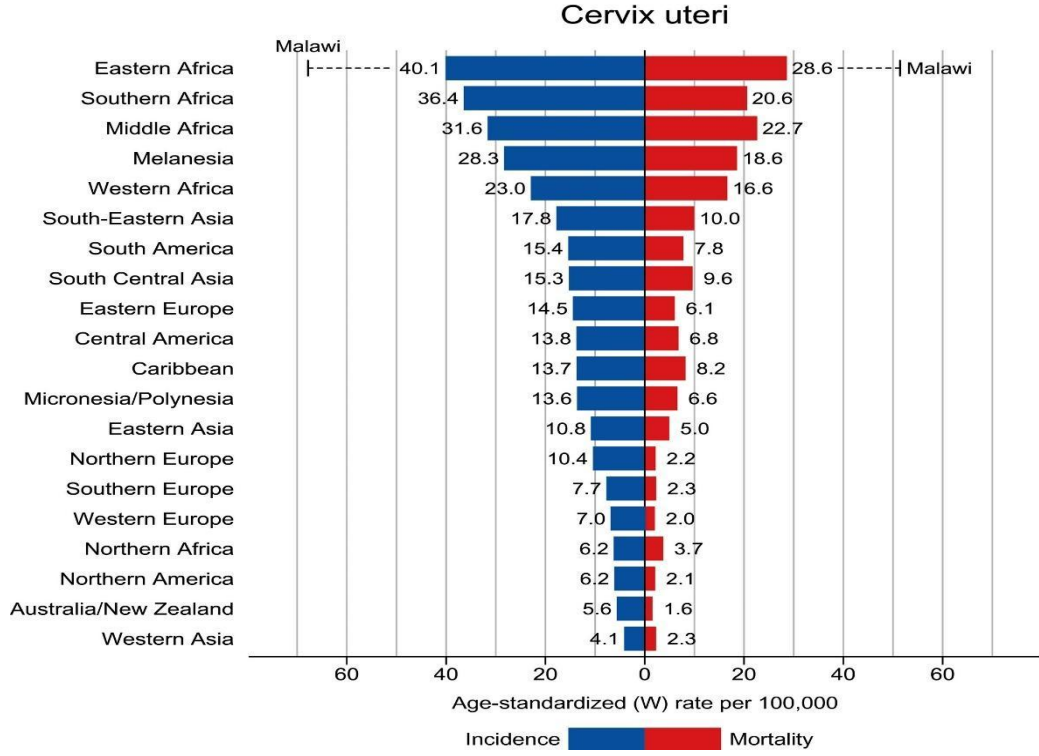
Kadınlarda en çok teşhis edilen iki kanser türünden birinci sırada meme kanseri iken ikinci sırada rahim ağzı kanseri görülmektedir. 36 ülkede rahim ağzı kanseri ölümlerin başında gelmektedir (49). Türkiye’de rahim ağzı kanseri, kanserler arasında dokuzuncu sırada yer almaktadır. Jinekolojik kanserler arasında ise üçüncü sıradadır. HPV aşısı Türkiye’de ulusal aşı takviminde olmamakla birlikte bu aşı ücretli ve isteğe bağlı olarak yapılmaktadır. Tarama 30 yaşında başlar ve 65 yaşa kadar 5 yılda bir yapılmaktadır. Türkiye’de Pap testi ile ilgili bilgi sahibi insanların oranı maalesef ki düşüktür. Pap testinin yapılma oranı %27’dir (50). Türkiye’de üniversite öğrencilerine yapılan bir çalışmada, HPV ile ilgili bilgi düzeylerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Aşılama oranının %0.6 ile %1.5 oranında değişiklik gösterdiği bulunmuştur (51).



Şekil 1.12. Kadınlar arasında en yaygın kanser insidansı (38).

2020 yılında, dünya çapında 604.000 yeni vaka ve 342.000 ölüm ile kadınlarda en sık teşhis edilen kanserlerden biridir. Sahra altı Afrika, Melanezya, Güney Amerika ve Güneydoğu Asya’da rahim ağzı kanseri ölümlerin başta geldiği ülkelerdir. En yüksek bölgesel insidans ve mortalite Sahra altı Afrika’dadır. HPV aşısı ve tarama programları ile rahim ağzı kanserinin neredeyse tamamının önlenileceği düşünülmektedir. Ancak düşük gelirli ülkelerde HPV aşısı ve taraması %30’dan azı, yüksek gelirli ülkelerde de %80’den azı uygulanmaktadır (49). Rahim ağzı kanseri taramasının 25 yaşından

itibaren başlanması ve 65 yaşına kadar her 5 yılda bir kez yapılması önerilmektedir (52).



**Şekil 1.13.** 2020 rahim ağzı kanseri için bölgeye göre özel insidans ve yaşa standardize edilmiş ölüm oranları (38).

Çin’de yapılan bir çalışmada, Çin’in 7 coğrafi bölgesinden belirli hastanelerden rahim ağzı kanseri ve kanser öncesi HPV genotiplime çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda rahim ağzı kanserinde en baskın ve en kansorejen HPV türlerinin HPV 16 ve HPV 18 olduğu belirlenmiştir (53).

## 2.5. Kanser Tedavisinde Kullanılan Yöntemler

Kanser tedavisinde kullanılan pek çok tedavi bulunmaktadır. Kanser türüne ve bulunduğu yere göre tedavi seçenekleri değişiklik göstermektedir. Bu nedenle kanser türleri arasında bazı hastalara tek bir tedavi uygulanırken, bazı hastalarda ise birden fazla tedavi seçeneği kullanılmaktadır. En sık kullanılan yöntemler arasında kemoterapi, radyoterapi, cerrahi yöntemleri kullanılırken hormon terapisi ve biyolojik yöntemler de kullanılmaktadır. Her yöntemin kendine özgü avantajları ve dezavantajları olması kişiye özgü tedavilerin gelişmesine neden olmuştur.

### 2.5.1. Kemoterapi

Kemoterapi, ilaç kullanılarak kanser hücrelerinin hedef almaksızın hızlı bölünen tüm hücreleri öldüren bir tedavi yöntemidir. Kemoterapi kelimesini Alman kimyager Paul Ehrlich kullanmıştır (54). Bu yöntem tedavi sırasında kanser hücrelerinin yanında normal hücrelere de zarar vermektedir. Kemoterapi, ilaçları vücudu dolaşarak kanser hücrelerini öldürmeyi veya büyümeyi engellemeyi amaçlar. Bunun yanında da normal hücrelerde zarar görmektedir. Lösemi ve lenfoma gibi kanser türlerinde etkili bir tedavi olduğu kanıtlanmıştır (55). Kemoterapide kullanılan ilaçlar, alkilleyici ajanlar, kortikosteroidler, anti metabolitler, anti tümör antibiyotikler, mitotik metabolitler ve topoizomeraz inhibitörleridir (56). Bu ilaçlar hızla bölünen hücreleri hedef alır ve kanser hücrelerinin DNA replikasyonunu veya hücre bölünmesini engeller. Klinikte kullanılan ilaçların çeşitli olması, çok farklı etki mekanizmalarına sahip olması, farklı sınıflara ayrılması karmaşıklığa neden olabilmektedir.

Alkilleyici ajanlar, genellikle protein üretimini baskılayan ajanlardır. Kararsız bir alkil grubu olan R-CH<sub>2</sub><sup>+</sup> proteinler ve nükleik asitler üzerindeki nükleofilik merkezlerle reaksiyona girer. Bu nedenle alkilleyici ajanlar R-CH<sub>2</sub><sup>+</sup>'yı vererek DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu inhibe eder. Bu ajanlar akciğer, meme, yumurtalık, lösemi, multipl miyelom gibi birçok kanser türünde kullanılmaktadır (54).

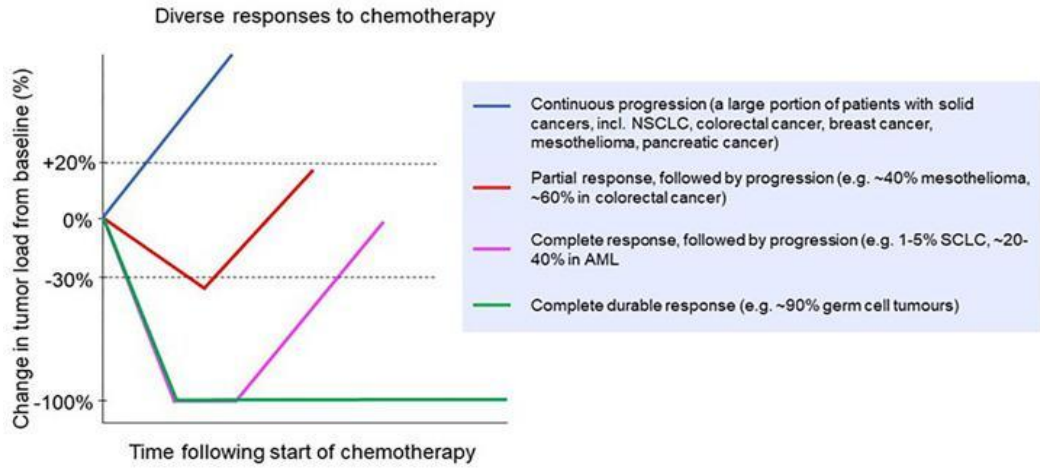
Kortikosteroidler, enflamasyonu azaltır ve bağışıklık sistemini baskılar.

Anti metabolitler, insan vücudunda sinyal iletimi, enzimleri baskılayarak DNA replikasyonunu inhibe eder. Küçük moleküllerin baskılanmasını sağlayan özel kimyasal maddelerdir. Bu maddeler hücreyi apoptoza gönderir.

Antitümör antibiyotikler, kanserli hücrelerin DNA ve RNA sentezini baskılar ve hücrenin büyümesini yavaşlatır.

Mikrotübüller, hücrenin şeklinin oluşmasını sağlayan proteinlerdir. Bu proteinler düzgün bir şekilde büyümeyi ve hücre hasar görür.

Topoizomeraz inhibitörleri, DNA'nın transkripsiyonunu engellerler ve hücrenin apoptoza gitmesine neden olurlar (56).



**Şekil 1.14.** Çeşitli kanser türlerinde kemoterapi sonucunda verilen klinik yanıtlar (56).

Kanserin evresine, hastanın sağlık durumuna ve kanserin türüne göre hangi ilaçların kullanılacağı değişmektedir. Kemoterapi sırasında sağlıklı hücrelerin zarar görmesi ile birçok yan etki oluşur. Yan etkileri genellikle kemoterapik ajanlarla ilişkilidir. Kemoterapi ilaçlarının çoğu hızla çoğalan hücrelerde aktivite gösterir. Bu nedenle kemik iliği, gastrointestinal sistem, saç folikülleri gibi hızla çoğalan hücreleri etkileme eğilimindedir (54). Yan etkiler hastadan hastaya değişebilir ve tedavide kullanılan ilaçlara göre farklılık gösterir. Mide bulantısı, kusma, saç dökülmesi, halsizlik, enfeksiyon riskinin artması, cilt sorunları, ağız yaraları gibi birçok yan etki görülür.

Lokal ve sistemik bir hastalık olan meme kanserinde sistemik kontrolü sağlamak için kemoterapi kullanılmaktadır. Luminal B grubunda olan hastalarda hormonoterapi tedavisiyle birlikte kemoterapi de kullanılmaktadır. Genellikle kanserin daha fazla yayılmasını engellemek için ya da tamamen ortadan kaldırmak için cerrahi tedavi öncesi veya sonrasında kemoterapi uygulanmaktadır. Son zamanlarda kanserin hızla mutasyona uğraması sonucunda günümüzde cerrahi, kemoterapi veya radyoterapi kombinasyonu şeklinde kullanılmaya başlanmıştır (58). Kemoterapi meme kanseri tedavisinin bir bileşeni olarak kullanılmaktadır. Genellikle doksorubisin, epirubisin, daunorubisin, paklitaksel, sisplatin, 5-Fluorourasil gibi ilaçların kombinasyonları kullanılır. Bu ilaçlar meme kanseri hücrelerini hedef alarak büyümelerini yavaşlatmayı ve öldürmeyi amaçlamaktadır. Meme kanseri eğer metastaz yapmışsa kemoterapi bu metastazı kontrol altına almak için kullanılır.

Rahim ağzı kanseri tedavisinde kemoterapinin yanında genellikle cerrahi operasyon ve radyoterapi kullanılmaktadır. Kemoterapinin rahim ağzı kanserindeki amacı tümörün

boyutunu küçültmek ve radyoterapi veya cerrahi operasyon öncesi tümörün daha kolay çıkarılmasına yardımcı olmaktır (59). Eğer kanser rahim dışındaki bölgelere yayılım göstermişse kemoterapi ile metastaz kontrol altına alınmasına yardımcı olmaktadır. Cerrahi operasyon yapıldıysa kanserin geri tekrarlamaması için kemoterapi tedavisi kullanılmaktadır. Genellikle ilaç kombinasyonları yapılarak uygulanmaktadır. Plantinyum bileşikleri, 5-Fluorourasil ve Paclitaxel gibi ilaçlar rahim ağzı kanseri tedavisine örnek olarak verilebilir (44).

### **2.5.2. Radyoterapi**

Radyoterapi veya radyasyon tedavisi, yüksek enerjili X ışınlarının veya diğer parçaların kullanılmasıyla kanser hücrelerini yok etmeyi ve büyümesini kontrol altına almayı hedefleyen bir tedavi yöntemidir. Vücudun sadece bir bölgesini hedef alarak yapılabileceği gibi, tüm vücudu hedef alan tedaviler de uygulanmaktadır (56). En yaygın türü olan dış ışın radyasyon, vücudun dışındaki bir makineden radyasyon verilmesiyle olur. Kanser hücrelerinin yakınına implantlar kullanılarak radyasyon verilmesine dahili radyasyon terapisi veya brakiterapi denilmektedir (60). Hastanın içine aplikatör adı verilen cihazlar kullanılarak girip tümörlü bölgeyi izole ederek yapılan bir tekniktir. Rahim, prostat ve serviks kanserlerinin tedavisinde etkin şekilde kullanılmaktadır (56).

Radyasyon tedavisi birçok farklı kanser türünde kullanılmaktadır. Kemoterapi ve cerrahi gibi diğer yöntemlerle birlikte de kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemiyle kanserli hücrenin DNA'sı zarar görür ve böylece hücrelerin büyümesi durur ya da yok olur. Kemoterapi tedavisi kanser hücrelerinin yanında sağlıklı hücrelere zarar verirken, radyasyon tedavisi genellikle lokal bir tedavi ile sadece kanserin bulunduğu bölgeyi tedavi etmektedir. Tedavi sırasında kanser hücrelerinin yanındaki dokular hasar görebilmektedir ancak bu hasar tedavi bittikten sonra iyileşir. Radyasyon tedavisinde, dış ışın radyasyon tedavisi 3 Boyutlu Konformal Radyoterapi (3D-CRT), Konformal Proton Işın Radyasyon Terapi, Yoğunluk Aracılı Radyoterapi (IMRT), Görüntü Rehberliğinde Radyoterapi (IGRT) gibi farklı türleri vardır. Bu yöntemlerin ortak amacı, öldürülmek istenen kanser hücreleri tamamen öldürmek ama bu sırada sağlıklı hücrelere zarar vermeden tedaviyi uygulamaktır (56).

3 Boyutlu Konformal Radyoterapi (3D-CRT), tedavi alanını daha hassas bir şekilde belirlemek için bilgisayarlı tomografi taramaları gibi görüntüleme teknikleri

kullanılmaktadır. Bu sayede kanserli bölgedeki tümörlerin şekline ve boyutlarına bakılarak çevresindeki normal dokuların daha ayrıntılı bir şekilde görüntülenmektedir. Normal radyasyon tedavilerine göre daha hassas hedefleme sayesinde daha yüksek dozlarda radyasyon verilir ve bu sayede geleneksel radyoterapilere göre daha kısa sürmektedir.

Yoğunluk Aracılı Radyoterapi (IMRT), baş boyun, beyin, prostat ve meme kanserlerinde kullanılan radyasyon tedavisinin daha da geliştirilmiş bir yöntemidir. IMRT, radyasyon ışınlarının yoğunluğunu farklı açılardan ve yoğunluklarda ayarlamak için bilgisayar kontrolü özel cihazlar kullanılır. Bu kanser hücrelerine daha yüksek dozda radyasyon verilmesini sağlar, sağlıklı dokuların korunmasına yardımcı olur.

Konformal Proton Işın Radyasyon Terapi, kanser radyasyon tedavisi için protonların kullanılarak kanser hücrelerini hedefleyen gelişmiş bir diğer tedavi yöntemidir. Protonlar fotonlara kıyasla daha fazla enerji taşır ve daha derin dokulara yayılım gösterir. Kanserli hücrenin şekline ve boyutuna göre radyasyon dozunu ayarlanabilir. Bu yöntem kanser hücrelerini hassas bir şekilde hedeflemenin ve normal dokuları korumanın bir yolunu sağlar.

Görüntü Rehberliğinde Radyoterapi (IGRT), kanser radyasyon tedavisinin bir türüdür. Bu yöntemde radyasyon uygulaması gerçek zamanlı olarak hastanın görüntülenmesi ile eş zamanlı ilerler. Bilgisayarlı tomografi, manyetik rezonans görüntüleme, pozitron emisyon tomografi ve ultrason gibi teknolojiler ile hastanın tedavi sırasında ve öncesinde görüntülenmesi sağlanır. Bu sayede kanser hedefinin anlık konumu ve hareketi izlenir. IGRT, kanser tedavisinin etkinliğini artırabilir ve normal dokulara zarar verme riskini minimuma indirir (109).

Radyasyon tedavisinin bir diğer türü olan brakiterapi kalıcı implantlar ve geçici dahili radyasyon tedavisi olarak ikiye ayrılmaktadır. Kalıcı implantlar, radyoaktif madde içeren minik çelik tohumlardır. Kapsüller pirinç tanesi büyüklüğündedir. Radyasyon tedavisinde radyasyonu implant alanına ve çevresine iletir. Bu sırada hastanın vücuduna da radyasyon girebilmektedir. Bir diğer tür olan geçici dahili radyasyon tedavisinde ise iğne ile kateter adı verilen bir tüp ve özel aplikatör aracılığıyla verilmektedir. Radyasyon vücutta birkaç dakika herhangi bir yerde kalabilir. Bu süre hastanın durumuna göre uzayabilmektedir. Bu nedenle diğer insanların radyasyona maruz kalmaması için hastalar özel odalarda kalırlar (61).

Meme kanserinde radyasyon tedavisi meme koruyucu cerrahi sonrası, kanser hücrelerinin geri dönme riskini azaltmak için, büyük boyutlu tümör hücrelerinin tedavisinde, lenf düğümlerine yayılmış kanser hücrelerini hedeflemede, metastatik meme kanseri hücrelerini kontrol altına almak ve semptomları hafifletmek amacıyla kullanılmaktadır. Tedavi sonrasında hastaların düzenli olarak takip edilmesi gerekmektedir. Tedavi seçenekleri hastanın kanserinin türüne, evresine ve kişisel sağlık durumuna bağlı olarak belirlenmektedir (62).

Rahim ağzı kanserinde radyasyon tedavisi, kanserli hücreleri hedefleyerek büyümelerini kontrol altına almak amacıyla uygulanmaktadır. Tedavi seçenekleri hastanın kanserinin evresine, türüne ve kişisel sağlık durumuna göre değişiklik göstermektedir. Genellikle cerrahi operasyonun mümkün olmadığı durumlarda kullanılmaktadır. Bilgisayarlı tomografi taramaları ve diğer görüntüleme teknikleri kullanılarak kanser hücrelerini hedeflerinin ve çevresindeki normal dokuların hassas haritaları oluşturulur (63).

### **2.5.3. Cerrahi Tedavi**

Cerrahi tedavi, kanserli hücrenin çıkarılması, biyopsi yapılması veya kanserli dokunun azaltılması için ameliyatla yapılan tedavi yöntemidir. Tek başına uygulanan bir yöntem olmasının yanında radyoterapi veya kemoterapi ile birlikte de kullanılmaktadır. Gelişmiş kanserleri engellemek amacıyla dokudan bir parça alınıp (biyopsi) tanı konulur. Cerrahi tedavi metastaz yapmamış kanserli dokuların vücuttan çıkarılmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Eğer cerrahi tedavi ile diğer bölgelere hasar verileceği düşünülüyorsa öncelikle kitlenin bir parçası alınır, daha sonra kemoterapi veya radyoterapi ile kitlenin küçültülmesi tercih edilir (56). Birçok kanser türü cerrahi ile tedavi edilmektedir. Cerrahi yalnızca tek bir yerde bulunan katı tümörleri tedavi etmede iyi sonuç verir. Lokal bir tedavi olan cerrahi yöntem, vücudun sadece kanserli kısmını tedavi eder. Lösemi ya da yayılmış kanserler için uygun değildir. Cerrahi öncesi hastaların fiziksel muayene, görüntüleme testleri, kan testleri ve biyopsi gibi hazırlıkların yapılması gerekir. Bundan sonra cerrahi stratejisi belirlenir. Birçok cerrahi tedavi yöntemi vardır. Bu türler ameliyatın amacına, vücudun ameliyat gerektiren kısmına, çıkarılacak doku miktarına, hastanın sağlık durumuna ve tercihinine bağlı olarak değişiklik gösterir (106).

Lenf nodu çıkarılması: Bazı kanserler diğer dokuların lenf nodullarına metastaz yapma eğilimindedirler. Bu tedavide kanserli lenf nodullarının çıkarılması diğer dokulara yayılmasını önlemek amacıyla kullanılır. Bu sayede kanserin yayılma riski azaltılmış olur. Örneğin meme kanseri lenf nodullarına metastaz yapabilen bir kanser türüdür. Bu nedenle cerrahi müdahale ile lenf nodları çıkarılır.

Tümörün çıkarılması (Reseksiyon): Bu işlemde kanserli tümörün tamamının çıkarılması amaçlanır. Bu tür cerrahi tedavisinde tümörün evresi veya yerine bağlı olarak farklı adlar almaktadır. Örneğin, meme kanseri tedavisinde meme dokusunun çıkarılması mastektomi, rahim ağzı kanseri tedavisinde rahmin çıkarılmasına hysterektomi adı verilmektedir.

Debulking Cerrahisi: Kanserli tümörün tamamen çıkarılması mümkün olmadığı durumlarda cerrahi tedavi ile tümörün boyutunun azaltılmasını amaçlayan bir türdür. Bu tedavi türünde tümörün küçültülmesi diğer yöntemlerin (kemoterapi veya radyoterapi) daha iyi yanıt vermesine yardımcı olur. Özellikle karaciğer, böbrek ve yumurtalık kanserleri gibi türlerde kullanılmaktadır.

Palyatif Cerrahi: Kanser bazı hastaların yaşam kalitesini çok fazla etkilemektedir. Bu nedenle palyatif cerrahi hastanın yaşam kalitesini artırmak için kullanılır. Bu tedavide semptomların hafifletilmesi veya tümörün neden olduğu rahatsızlıkların azaltılması amacıyla gerçekleştirilir. Örneğin, tümörün neden olduğu tıkanıkları açmak ya da ağrıyı hafifletmek için tedavi edilir.

Rekonstrüktif Cerrahi: Bazı durumlarda, kanser cerrahisi sonucunda doku ve organlar kaybedilmektedir. Bu kaybedilen doku veya organların onarılması ve yeniden inşa edilmesi için rekonstrüktif cerrahi kullanılmaktadır. Meme rekonstrüksiyonu, yüz rekonstrüksiyonu buna örnek olarak verilebilir (64).

#### **2.5.4. Hormonal Tedaviler**

Hormonlar vücutta doğal olarak üretilen proteinler ve ihtiyaca göre dışarıdan verilen kimyasal maddelerdir. Üretilen hormonlar daha sonra dolaşıma girip endokrin sinyaller yoluyla doku ve organların davranışlarını kontrol ederler (56). Hormonların birçok kansere neden olduğu ve gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir. Hormon tedavisi, vücutta belirli hormonları uzaklaştıran, bloke eden ve ekleyen bir kanser tedavi türüdür, meme ve prostat kanseri için son derece etkili bir tedavidir. Diğer kanser türleri de

düşük düzeyde hormon duyarlılığı göstermektedir. Hormon tedavisine anti- hormonal tedavi veya endokrin tedavi de denilmektedir (65).

Bazı kanserler büyümek ve gelişmek için hormonları kullanırlar. Bu, kanserin hormona duyarlı veya hormona bağlı olduğu anlamına gelmektedir. Hormon tedavisinde kanserli hücrelerin büyümesini durdurmak ve yavaşlatmak için vücuttaki hormon miktarını azaltmak ya da yok etmek için ilaçlar kullanılır. Genellikle meme, prostat, yumurtalık ve rahim kanserleri için kullanılmaktadır. Bazı kanser türlerinde kanser hücreleri, büyümelerini ve yayılmalarını kontrol eden hormonlara yanıt verir. Meme kanseri hücreleri östrojen ve progesteron gibi hormonlara yanıt veren hormon reseptörleri içerebilir. Aynı şekilde prostat kanseri hücreleri de testosteron ve diğer androjen hormonlarına yanıt verebilir. Hormon reseptörü pozitif kanserler, bu hormonların kanser hücrelerini teşvik ettiği türlerdir (66).

Östrojen, menopoz öncesi kadınlarda parafoliküler yumurtalıklarda ve menopoz sonrası kadınlarda adrenallerde meydana gelen bir dizi reaksiyonun ardından kolesterolden sentezlenir. Menopoz öncesi kadınlarda östrojen üretimi döngüselidir. Menopoz sonrası kadınlarda östrojen sentezinin ana yeri yağ dokusudur ve sentez döngüsel kontrol altında değildir. Bu yüzden çevresel ve genetik faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Meme kanserinde menopoz öncesi kadınların %50'sinde ve menopoz sonrası kadınların da %80'ininde hormon reseptörü pozitifdir. İmmünohistokimyasal yöntemlerle Östrojen (ER) ve progesteron (PR) ekspresyon seviyelerinin pozitiflik derecesi rutin olarak ölçülür. Hormon reseptörü pozitif olması durumunda ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER-2)'nin aşırı eksprese edilmesi halinde tek başına hormon tedavisinin yetmeyeceği düşünülmektedir (65). Tamoksifen, meme kanseri için en yaygın kullanılan hormon tedavi ilaçlarından biridir. Östrojen reseptörlerini bloke ederek çalışır.

Androjen, erkeklerde %90'ı testisin Leydig hücreleri tarafından üretilen testosterondur. Androjen hormonların prostat kanseri hücrelerinin büyümesini teşvik ettiği bilinmektedir. Hormon tedavisinde bu hormonların üretimini azaltmak veya etkini yok etmek için kullanılır. Prostat kanseri için kullanılan Dietilstilbestrol, tek bir ajan olarak testosteronun hızlı bir şekilde azaltılmasını sağlar. (65).

### 2.5.5. İmmünoterapi

1891 yılında İmmünoterapinin babası olarak kabul edilen Dr. William Coley, 18 yaşındaki bir hastanın ölümünden sonra canlı ve inaktif *Streptococcus pyogenes* ve *Serratia marcescens* karışımlarının tümörün gerilemesine neden olabileceğini fark etmiştir (67). Bu strateji kanserin bağışıklık sisteminden yararlanılarak tedavi edilmesine ve yeni stratejilerin çıkmasına öncü olmuştur.

İmmünoterapi, bağışıklık sisteminin hastalıkları önlemek ve bunlarla mücadele etme yeteneğini artıran ve yeniden oluşturan materyallerin kullanıldığı bir tedavi yöntemidir. Kanser tedavisinde sitokinler, antikorlar ve hücreler sıklıkla kullanılmaktadır. Bu tedavi yönteminde amaç, bağışıklık sistemini kullanarak kanser hücrelerini ortadan kaldırmaktır. Vücudun kendi bağışıklık sistemi hücreleri kanser hücrelerini ortadan kaldırmaya çalışır gibi bu, sentetik uyarıcılar ile de yapılabilmektedir. (56). Doğuştan gelen bağışıklığın aksine, adaptif bağışıklık sistemi spesifik olarak dış antijenleri hedefleme yeteneğine sahiptir ve bu özellik, kanser hücrelerine karşı bağışıklık tepkisinin etkinliğinde önemli rol oynar. Bu nedenle aşılarda, monoklonal antikorlar ve kontrol noktası inhibitörleri gibi çeşitli immün tedavi yöntemleri geliştirilmiştir. İmmünoterapiler aktif immünoterapi ve pasif immünoterapiler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Aktif immünoterapi, bağışıklık tepkisinin kalıcı ve doğrudan uyarılmasını sağlarken, pasif immünoterapi spesifik olmasına rağmen genellikle kısa ömürlüdür (68).

Antikor tedavilerinde, genellikle monoklonal antikorlar, konjuge monoklonal antikorlar, çıplak monoklonal antikorlar ve bispesifik monoklonal antikor ajanları kullanılmaktadır. Antikorlar vücuda giren yabancı maddelere karşı B hücreleri tarafından salgılanan immünglobulinlerdir. Her B hücresi özel bir antikor üretir ancak bu kanser hücrelerini yok etmek için yeterli değildir. Bu nedenle monoklonal antikorlar üretilir. Hodking lenfoma, akciğer, kolorektal ve meme kanseri gibi birçok kanser türü için monoklonal antikorlar üretilmiştir (68).

Aşılarda, geleneksel aşılara benzerlik gösterir. Tek farkı kanser aşılarda kanser hücrelerini hedeflemektir. Kanser aşılarda, immün sistemi B veya T hücrelerini uyararak hastalığı engellemeyi hedeflemektedir. Buna en iyi örnek rahim ağzı kanserine neden olan HPV ve HBV gibi virüslere karşı üretilen aşılardır (56).

Sitokin tedavileri, bağışıklık sistemi hücreleri tarafından tümör oluşumu gibi hücresele streslere yanıt olarak salgılanan sitokin adı verilen haberciler salar. Salınan sitokinler, hızlı bir şekilde yayılım göstererek hedef antijenlere karşı immün yanıt üretirler. Sitokin tedavisinin en tipik örneği interlökin 2'nin metastatik kanserli hastalarda uygulanmasıdır (67).

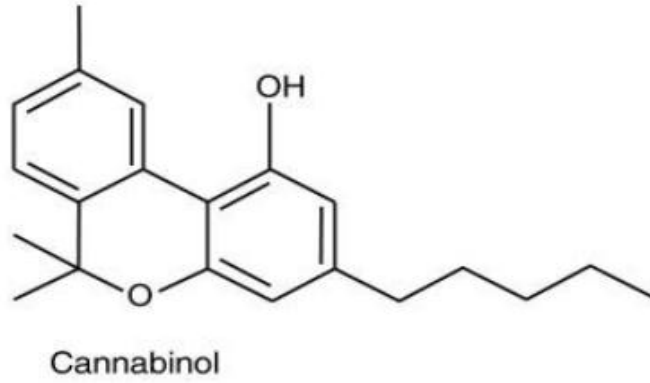
Kontrol noktası inhibitörleri, en önemli immünoterapi yöntemlerinden biridir. Bağışıklık kontrol noktaları, kanser hücreleri tarafından bağışıklık gözetiminden kaçınmak için kullanılır. ICI'ler kanser hücrelerinin ortak inhibitör sinyal yollarını kesintiye uğratar ve immün aracılı tümör hücrelerini ortadan kaldırmaya teşvik eder (67).

## 2.6. Kannabinol

Kannabinol (CBN), 1800'lerin sonlarında, kenevir bitki ekstraktından izole edilen hafif derecede psikoaktif bir kanabinoiddir. Yapısı 1930 yılında Robert Chan tarafından aydınlatılmış ve kimyasal sentezi 1940'ta elde edilmiştir. Kenevirden türetilen bireysel bileşiklerin in vivo etkilerini belirlemeye yönelik ilk temel araştırma çalışmalarından bazıları yapılmıştır (107). CBN, M. Ö. 750 yılına dayanan Xinjiang- Uygur özerk bölgesindeki (Çin) bir mezarda bulunan ve hala yüksek düzeyde molekül içeren, bitki materyalinin keşfiyle tanımlanmıştır. CBN, 19. yüzyılın sonlarında esrardan izole edilen ilk fitokanabinoid olarak kabul edilmiştir ancak talihsiz keşfi nedeniyle yapısı ile ilgili bazı sorunlar çıkmıştır ve 1940'a kadar tam olarak çözülememiştir. 19. yüzyılın sonunda CBN ve diğer fitokanabinoidleri içeren yoğun bir reçine olan kahverengimsi ve katı bir formda olan "kırmızı yağı" tanımlamak için kannabinol adını kullanılmıştır (69).

Kanabinoidler, *C. Sativa L.* 'nin glandüler tüyleri tarafından üretilen reçinede meydana gelen bir C21 bileşikleri grubudur. Esrarın bilinen 420'den fazla bileşeni arasından 60'tan fazlası kimyasal olarak terpenofenollere ait olan kanabinoidlere aittir. Genellikle tohumları hariç bitkinin tüm kısımlarında bulunurlar. Kanabinoidin ana bileşenleri; kannabinol (CBN), kannabidiol (CBD),  $\Delta^9$  tetrahidrokanabinol (THC), kannabigerol ve kannabikromen (CBC)'dir. En önemli temsilcisi halüsinojenik özelliklere sahip olan THC'dir. Ana kanabinoidler (THC, CBD, CBN ve CBC) genellikle *C. sativa*'nın her üreme suşunda veya kültüründe tespit edilir (70). Kanabinoidlerin kanser hücre göçü,

istilas ve metastaz üzerinde önleyici etkisi olduğu birçok çalışma tarafından belirlenmiştir. Örneğin yapılan bir çalışmada, kanabinoidlerin meme, akciğer, mide, melanom ve karaciğer birçok kanserde G1/S fazında hücre döngüsünün durmasına neden olan AKT/PKB sinyal yolunu baskılayarak proliferasyonu inhibe ettiği bulunmuştur (71).

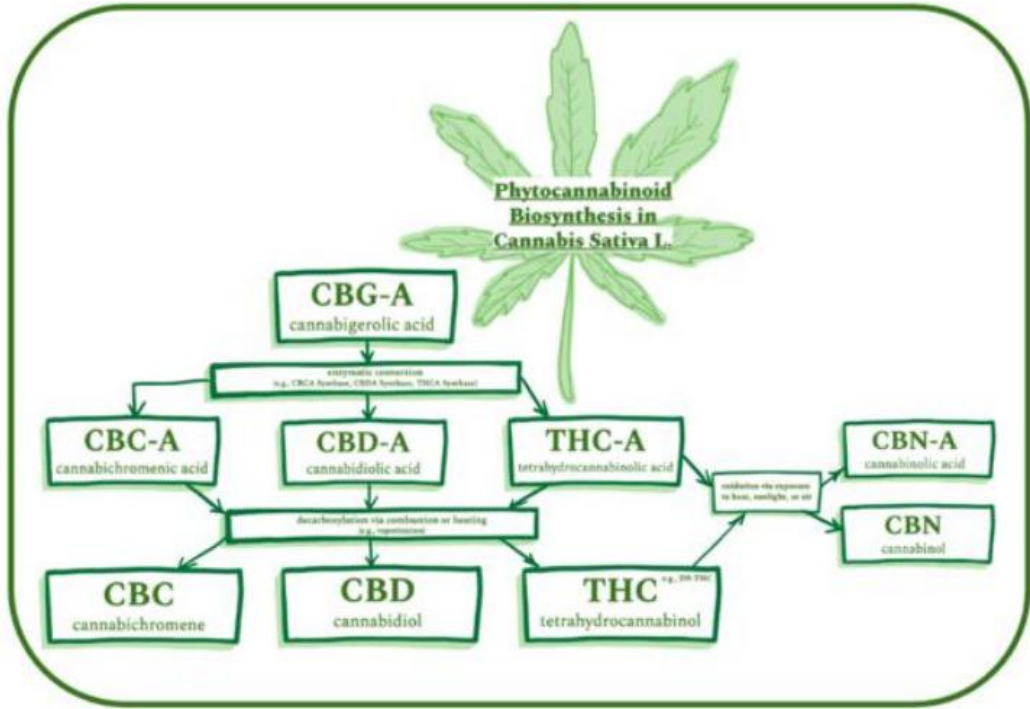


şekil 1.15. Kannabinol'ün kimyasal yapısı.

Kannabinol, *Cannas sativa* L.'den türetilen birçok fitokannabinoitten biridir. *Cannas sativa* L. yüzyıllardır çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitki tarafından üretilen kanabinoidler geniş biyoaktivite aralıkları ile iyi bilinen özel bir bileşik grubudur. Endokanabinoidler, sentetik olarak sentezlenmiş kanabinoidler ve özellikle kenevir bitkisinden elde edilen kanabinoidleri ifade eden fitokanabinoidler olmak üzere birkaç türü vardır. Fitokanabinoidler kanabinoid reseptörlerini aktive ederek hücre tipine bağlı olarak hücre çoğalmasını, farklılaşmasını ve ölümünü modüle ettiği belirlenmiştir. Fitokannabinoidlerin yapısı, karakteristik hibrit doğası nedeniyle kolayca tanımlanabilmektedir. Fitokanabinoid birçok bitki ve mantarda tanımlanmasına rağmen CBN, *C. sativa*'daki fitokanabinoidlerden biridir ve sadece esrarda tanımlanmiştır. Bu nedenle diğer kanabinoid çeşitlerinden kökeni bakımından farklılık gösterir (69). Fitokanabinoidlerin, biyolojik yolların modülasyonu yoluyla geniş bir farmakolojik profil aralığına sahip olduğu ve merkezi sinir sisteminde eksitotoksisite, oksidatif stres ile mücadele için umut verici ilaç adayları olduğu belirlenmiştir (72).

Kannabinol, hem CB1 hem de CB2 reseptörlerinde düşük afiniteli bir kısmi antagonist olarak işlev gören küçük bir fitokannabinoiddir. CBN'nin endokannabinoid sistem (ECS) ile etkileşimini CB1 ve CB2 reseptörlerinin aktiviteleri oluşturur. Endokanabinoid sistem (ECS), endokanabinoidlerin biyolojik etkilerini kanabinoid reseptörlerine (CBR'ler), özellikle G'nin üyeleri olan CBR1 (CB1 olarak da bilinir) ve

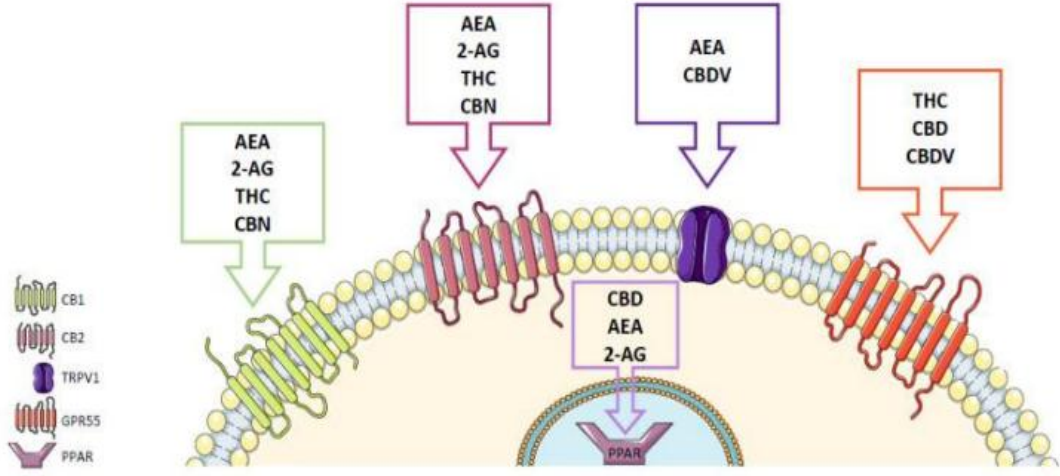
CBR2'ye (CB2 olarak da bilinir) bağlanarak uyguladığı karmaşık bir sinyal yoludur. Bu sistem endokanabinoidlerin reseptörlere bağlanmasıyla aktivasyonunu gösterir. Endokanabinoidler, stresin düzenlenmesi, ağrı algısı, iştah kontrolü, karakteristik fonksiyonu, uyku düzenlenmesi ve hafıza gibi koşullarında rol oynamaktadır. Ek olarak endokanabinoidler bağışıklık sisteminin fonksiyonunun düzenlenmesinde ve inflamasyonun kontrolünde merkezi rol oynamaktadır (71). Diğer iki kanabinoid olan fitokanabinoidler ve sentetik kanabinoidler endokanabinoidlere benzer yapıları nedeniyle ECS sistemi aracılığıyla insan hücrelerinin biyolojik fonksiyonunu etkilemektedirler. Bugüne kadar 120'den fazla fitokanabinoid tanımlanmıştır ve CBN diğer fitokanabinoidlere göre küçük bir kanabinoiddir ve THC (tetrahidrokannabinol) ve CBD (kannabidiol) gibi daha iyi bilinen kanabinoidlerle karşılaştırıldığında çok daha düşük konsantrasyonlarda mevcut olduğu anlamına gelir (73).



**Şekil 1.16.** Kenevir bitkisinde fitokanabinoidlerin (örn. CBD, THC, CBN) yaratıldığı biyosentetik ve metabolik yolları

CBG-A'dan başlayarak, bazı fitokanabinoidlerin asidik formları, enzimatik dönüşüm yoluyla üretilir. Oradan, dekarboksilasyon (yanma veya ısı ile katalize edilen) kenevir bitkisinde bulunan en iyi bilinen metabolitleri verir. CBN, önceden var olan asidik bir formdan ortaya çıkmaması, bunun yerine THC'nin oksidasyonu yoluyla üretilmesi bakımından benzersizdir. (74). Bu oksidasyon süreci, ısıya, oksijene ve/veya ışığa maruz kalma yoluyla gerçekleşir. Raporlar sınırlı olmakla birlikte, CBN-A, THC-A'nın

hidrolizi yoluyla oluřtuđu dűřűnűlen kenevir bitkisinde de çok dűřűk seviyelerde ۆlűlműřtir (74).



**řekil 1.17.** Kanabinoidler ve reseptűrleri. AEA—anandamid; 2-AG—2- arařidonoilgliserol; THC— $\Delta^9$  - tetrahidrokanabinol; CBD—kannabidiol; CBN— kannabinol; CBDV—kannabidivarin (75).

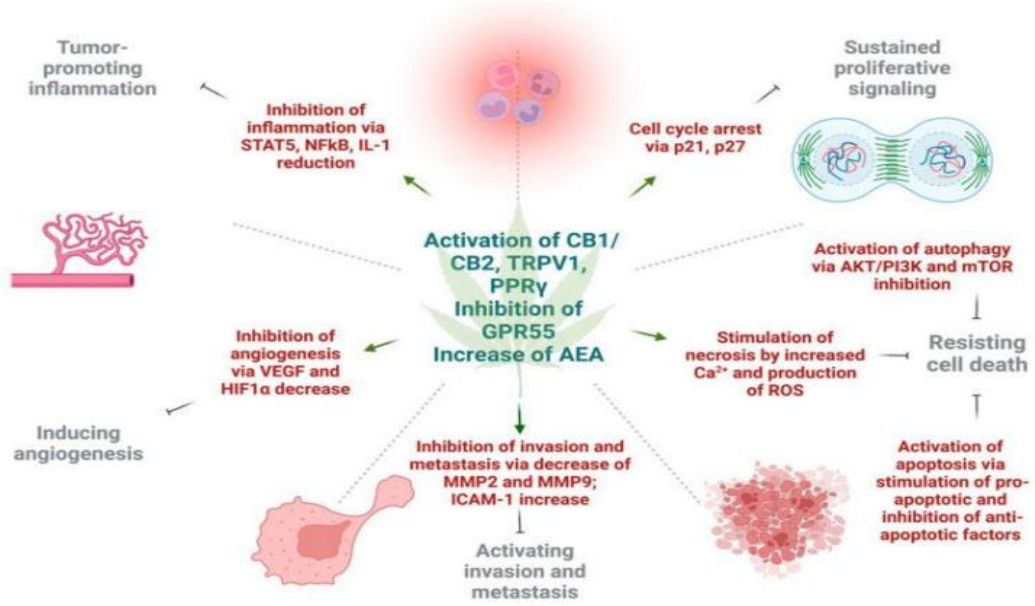
Kanabinoid reseptűrleri CB1 ve CB2, GPR55 ve ayrıca katyon kanalı TRPV1 ve nűkleer reseptűr PPAR sunulmaktadır (75). CBN, CB1 ( $K_i = 211,2$  nM) ve CB2 ( $K_i = 126,4$  nM) reseptűrlerini aktive eder. CBN'nin merkezi ve periferik sinir sistemi boyunca yer alan CB2 reseptűrlerine eřdeđer veya daha yűksek afinitesi vardır. CB2 reseptűrlerinin vűcuttaki bađıřıklık hűcrelerinde bulunduđu bilinmektedir. Bu bađıřıklık hűcrelerinin, bađıřıklıkla ilgili kimyasal sinyallerin (ۆrn. sitokinler) ۆretimini azalttıđı veya CBN tarafından CB2 agonizminin bir sonucu olarak apoptoz geçirdiđi gűsterilmiřtir. Hűcre kűltűrűnde CBN, ۆzellikle antibiyotiđe dirençli bakteri ۆrneklerinde antimikrobiyal etkiler gűsterir. CBN'nin ayrıca yűksek konsantrasyonlarda ( $>20$ nM) bir ANKTM1 kanal agonisti olarak hareket ettiđi bildirilmiřtir. Ek olarak, CBN'nin CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1 enzimlerini inhibe edebildiđi, TRPA1 katyon kanallarını duyarsızlařtırabildiđi ve TRPM8 katyon kanallarını bloke edebildiđi de gűsterilmiřtir (75).

**Tablo 1.2.** Kannabinol'ün varsayılan reseptör hedefleri ve terapötik özellikleri (74).

Bileşiğin Adı	Bilinen Reseptör Hedefleri	Varsayılan Terapötik Özellikleri
Kannabinol	<ul style="list-style-type: none"><li>-CB1 ve CB2'de agonist, CB2'de biraz daha yüksek afiniteye dair bazı kanıtlar vardır.</li><li>- TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4 ve TRPA1'de düşük afiniteli agonist ancak TRPV4'ü kolaylıkla duyarsızlaştırır.</li><li>- TRPM8'de antagonist</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Antimikrobiyal ve antiinflamatuar/immünosupresif etkileri vardır.</li><li>- Oküler hastalık ve epidermolizis bülloza tedavisinde potansiyel etkileri mevcuttur.</li><li>- Bildirilen nöroprotektif etkileri (diğer kanabinoidlerle birlikte uygulandığında sinerjistik) vardır.</li><li>- TRP kanal aktivitesi yoluyla ağrı, kaşıntı ve iltihaplanma ile ilgili bulgular vardır.</li></ul>

Kanabinoidler kanserin hemen hemen her özelliğini hedef alabildiği bilinmektedir. Proliferasyonu inhibe ederler, inflamasyonu azaltırlar, apoptozu uyarırlar ve tümör invazivliğini, anjiyogenezi ve metastazı inhibe ederler (71). Kanabinoidlerin antitümör özelliklerinin yanı sıra en önemli etkilerinden biri, tümörleri çevreleyen dönüşmemiş normal hücreleri etkileme olasılıklarının daha düşük olması ve hatta koruyucu etkilerinin olabilmesidir. Örneğin kanabinoidler, normal astroglial ve oligodendroglial hücreleri CB1 reseptörleri yoluyla apoptozdan korurken glioma hücrelerinde hücre

ölümüne neden olabilir. Hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, kanabinoidlerin belirli tümör türlerine karşı koruyucu etkilerini göstermektedir (1).



Şekil 1.18. Kanabinoidlerin kanserin farklı özellikleri üzerindeki etkileri.

Kanabinoid 1 (CB1), kanabinoid 2 (CB2) ve geçici reseptör potansiyel katyon kanalı 1'in (TRPV1) aktivasyonu, anandamid (AEA) seviyelerinin yanı sıra G-protein bağılı reseptör 55'in (GPR55) inhibisyonunu artırır ve kanser belirtileri açısından tümör hücreleri üzerinde farklı etki eder. (71).

### 2.6.1. Kannabinol'ün Biyolojik Aktiviteleri

CBN, kenevir bitkisinde doğal olarak oluşan bir kanabinoiddir. Kannabinol ile ilgili biyolojik aktiviteler, THC ve CBD gibi diğer kanabinoidlerle karşılaştırıldığında daha az araştırılmıştır.

**2.6.1.1. Sedatif Özellikleri:** CBN'nin hafif sedatif etkileri olduğu öne sürülmektedir.

Bazı araştırmalar CBN'nin rahatlamayı ve uyuşukluğu artırabileceği gösteriyor. Ancak bu sedatif etkinin kapsamını ve mekanizmalarını belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (69).

**2.6.1.2. Anti-inflamatuar Özellikleri:** CBN, diğer kanabinoidler gibi anti-inflamatuar özelliklere sahiptir. Araştırmalar, iltihaplanma ile ilişkili durumlarda faydalı olan iltihabın azaltılmasında potansiyel olarak yardımcı olabileceğini düşündürmektedir (69).

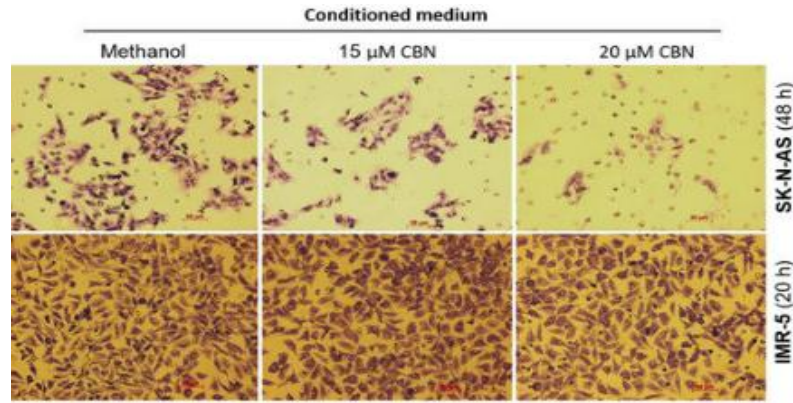
**2.6.1.3. İştah Uyarımı:** CBN'nin esrarda bulunan diğer kanabinoidlere benzer şekilde iştahı uyarma üzerinde etkisi olabileceğine dair bazı öneriler vardır. Bu iştahla ilgili sorunları olan kişiler için potansiyel olarak faydalı olabilir (69).

**2.6.1.4. Ağrı Giderme:** THC ve CBD gibi diğer kanabinoidlerle karşılaştırıldığında daha az çalışılmış olsa da CBN'nin ağrı kesici özelliklere sahip olabileceğini gösteren kanıtlar vardır (69).

**2.6.1.5. Antibakteriyel Aktivitesi:** CBN'nin ve diğer kanabinoidlerin antibakteriyel etkileriyle ilgili bazı çalışmalar bulunmaktadır. Novak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, *C. sativa*'nın beş farklı esansiyel yağını gram pozitif ve gram negatif patojenlerden oluşan geniş bir panele karşı değerlendirilmiştir. *Acinetobacter calcoaceticus* ve *Brevibacterium linens*'e karşı orta düzeyde bir aktivite gösterdiği ve çok düşük seviyelerde CBD ve CBN tespit edilmiştir. Sonuç olarak *C. sativa* bitkisinin antimikrobiyal aktivitede rol oynadığı göstermektedir. CBN'nin diğer antibakteriyel maddelere ek bir seçenek olabileceği düşünülmektedir ve bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (76).

## 2.6.2. Kannabinol ile Yapılan Çalışmalar

Yüksek riskli nöroblastom agresif tedavisi için yapılan bir çalışmada ise CBN'nin AKT yolunun inhibasyonu ve E2F1'i hedef alarak miR-34'nın yukarı regülasyonu yoluyla nöroblastom hücre hatlarının hücre proliferasyonunu, istilasını ve anjiyogenezini doza bağlı bir şekilde zayıflattığı bulunmuştur (şekil 1.19). Sonuç olarak CBN'nin nöroblastoma tümörünün oluşumunda baskılayıcı bir yönü olduğu belirlenmiştir (73).



**Şekil 1.19.** MTT tahlili sonucunda CBN iki nöroblastoma hücre hattı üzerinde doza bağlı bir şekilde proliferasyonu zayıflatmıştır (73).

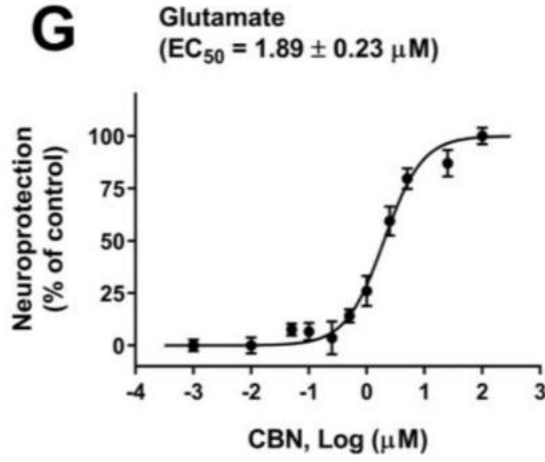
Oküler hastalık ve epidermolizis bulloza tedavisinde CBN ile yapılan prelinik çalışmalar, mükemmel bir güvenlik profili gösterdiğini ortaya koymuştur.

**Tablo 1.3.** CBN ve CBV'nin İyon Kanalı Aktivitesi (77).

ion channel	EC <sub>50</sub> (μM)		efficacy (%)		desensitization IC <sub>50</sub> (μM)	
	CBN	CBV	CBN	CBV	CBN	CBV
TRPV1 <sup>a</sup>	6.2	6.6	<10	50	82	11.9
TRPV2 <sup>b</sup>	19	3.1	74	79	15.7	3.2
TRPV3 <sup>c</sup>	5.3	3.5	72	78	9.4	1.6
TRPV4 <sup>d</sup>	16.1	7.3	60	37	5.4	4.0
TRPA1 <sup>e</sup>	0.18	0.20	243	123	0.4	0.17
TRPM8 <sup>f</sup>	n/a	n/a	n/a	n/a	0.21	0.50

CBN, tablo 1.3.'de gösterildiği gibi bir dizi TRP iyon kanalıyla aktivite açısından değerlendirilmiştir. CBN, güçlü bir TRPA1 agonistidir ve güçlü bir TRPM8.49 inhibitörüdür. CBN, TRPV1, TRPV3 ve TRPV4.49,102'nin aktivasyonunda çok düşük etkinlik gösterir. Endojen stimülasyon için gerekli olandan daha düşük seviyelerde bu kanalların inaktivasyonunun, yukarı regüle edilmiş iyonotropik kanal aktivitesinden kaynaklanan metabolik ve kardiyovasküler bozuklukların ve kanserin yanı sıra ağrı, kaşıntı ve iltihaplanmanın tedavisinde potansiyel olarak avantajlı olduğu öne sürülmüştür (77).

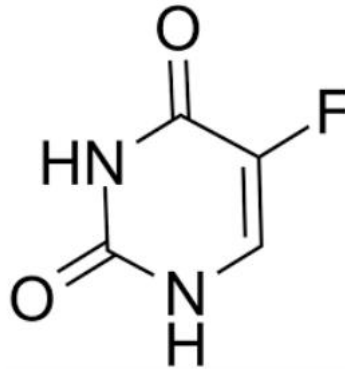
Yapılan bir çalışmada, fitokanabinoidlerin yaşlanan beyinle ilişkilendirilen mitokondriyal fonksiyon bozuklukları ve hücrel toksisiteler üzerinde koruyucu etkiler sağladığı bulunmuştur. CBN'nin doğrudan mitokondriyi hedef alarak hücrel oksidatif stresi azalttığı, nörol hücrelerde intranöral β-amiloidi ortadan kaldırdığı ve oksitoz/ferroptozu inhibe ettiği belirlenmiştir. Kontrol HT22 hücreleri 1 saat boyunca değişen konsantrasyonlarda CBN ile ön işleme tabi tutulup ve 5 mM glutamat işlemi ve 16 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. CBN'nin 5 mM glutamat tarafından indüklenen oksitoz/ferroptoz yolunu etkili bir şekilde bloke ettiği bulunmuştur (72).



**Şekil 1.20.** CBN HT22 hücrelerinde oksitaoz/ ferroptozu inhibe eder (72).

### 2.7. 5-Fluorourasil (5-FU)

İlk kez 1957’de sentezi yapılan 5- fluorourasil kolorektal, meme, pankreas gibi birçok kanser türlerini tedavi etmek için yaygın olarak kullanılan bir antimetabolit ilaçtır (78). Antimetabolitler hücelere girerek hücre büyümesi için kritik olan molekülleri taklit etmektedir. 5-Fu, bir urasil analogudur ve urasilden farkı karbon 5’e hidrojen atomu yerine ek bir flor atomunun bağlanmasıyla oluşur (79), (Şekil 1.21). Kolorektal ve meme kanserlerinin yanı sıra sindirim sistemi kanserinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmakta ve hala referans tedavi olarak kabul edilmektedir (80). Doğal bir sitotoksiktir ve DNA ve RNA’ya zarar vererek hücrelerin normal mekanizmalarını bozmaktadır. Molekül ağırlığı 130.08 g.mol<sup>-1</sup> ve beyaz, kokusuz kristalize bir tozdur. Kloroform, benzen ve eterde çözünmeyen intravenöz olarak uygulanan bir ilaçtır (81).



**Şekil 1.21.** 5- Fluorourasil’in kimyasal yapısı (82).

Antikanser etkisinin yanında 5-FU’nun antibakteriyel (*S. aureus* ve *S. epidermidis*’e karşı) ve antiviral etkileri bazı çalışmalarda belirlenmiştir (79). Çeşitli kanserlerde

uygulanmasına rağmen en yüksek etkiyi kolorektal kanserin tedavisinde göstermiştir (79). 1957'den beri kemoterapi tedavisi olarak kullanılan bir antipirimidik antimetabolittir ve kanser hücresi büyümesinin inhibisyonu ve apoptozu başlatması nedeniyle adjuvan tedavilerde en sık kullanılan ilaçlardan biri olmuştur (80). 5-FU'nun olumsuz etkileri ve düşük biyoyararlanımı vardır ve 5-FU'nun kısa yarı ömrü ve değişken oral biyoyararlanımına ek olarak kanserli hücreler üzerinde %10'luk bir yanıt oranı vardır (83). Yaygın olarak kullanılan 5-FU, farmakolojik tedavilerin düşük etkinliği ve hücre ölümü fenomenine karşı yüksek direnç gibi farklı mekanizmalar nedeniyle kemo direnç fenomenine büyük ölçüde katkıda bulunabilir (84). Genellikle irinotekan, lökovorin gibi kemoterapik ajanlarla birlikte kullanılır. Etkisini üç farklı mekanizma yoluyla DNA hasarını ve ardından hücre ölümünü indükleyerek gösterir (80).

Araştırmacılar son zamanlarda 5-FU'nun ana kanser karşıtı etkilerinin sadece DNA üzerindeki yıkıcı etkilerinden kaynaklanmadığını düşünüyorlardı. Ancak yapılan çalışmalar sonucunda 5-FU'nun rRNA öncüsünü yanlış konumlayıp rRNA'nın transkripsiyonunu ve olgunlaşmasını engellediği bulunmuştur. Bu üridin'in psödoüridine dönüşümünü inhibe ettiği ve bu durumun sonucunda psödoüridin içeren tRNA, mRNA ve snRNA'nın kusurlu ve işlevsiz hale geldiği belirlenmiştir (79).

### **2.7.1. 5-Fluorourasil'in Etki Mekanizması**

5-FU, urasil ile aynı mekanizmayı kullanarak kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla hücrelere girer. DNA ve RNA sentezini inhibe ederek etki gösterir. 5-FU etkisini üç farklı mekanizma yoluyla gösterir. Bu sitotoksik etkiler, 5-FU'nun florodeoksiüridin monofosfat (FdUMP), floroüridin trifosfata (FUTP) ve florodeoksiüridin trifosfata (FuUTP) dönüştürülmesiyle hücrelerde üretilen farklı metabolitlerin sonucudur (80).

5-FU direncinin mekanizması ana metabolitleri TS (timidilat sentaz), DPD (dihidroprimidin dehidrojenaz) ve TP (timidin fosforilaz)'dir.

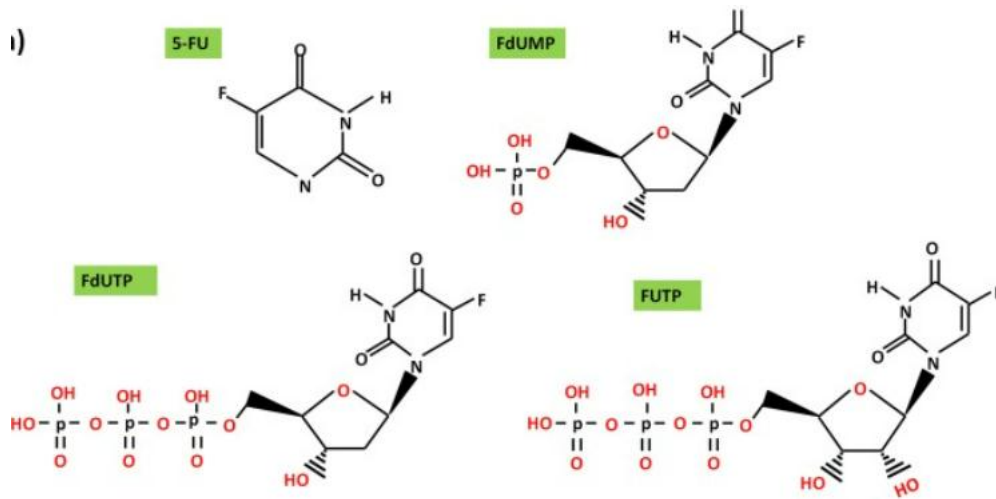
TS, DNA onarımı ve replikasyonu için çok önemli olan timidilatın de nova sentezini katalize eder. dUTP ve dTTP arasındaki dengesizlik, diğer deoksinükleotid seviyelerinde bozulmaya neden olur. Bu durum, DNA sentezini ve onarımını önemli ölçüde engeller. Sonuç olarak, 5-FU içeren DNA'nın onarımı, urasil-DNA glikozilaz

(UDG) gibi enzimler tarafından etkili bir şekilde yapılamaz hale gelir. Sonuç olarak DNA hasarı ortaya çıkar ve hücre ölümüne neden olur.

TP'nin floropirimidin bazlı tedavide rolü karmaşıktır. Tümör dokusunda TP, 5-FU'nun FdU'ya dönüşümünü hızlandırarak 5-FU'nun etkili bir şekilde aktive olmasını sağlar (78).

5-Fluorourasil katabolizmasına ilk katılan dihidroprimidin dehidrojenaz (DPD), 5-FU'yu parçalayan ana enzimdir ve esas olarak karaciğerde bulunur (79). 5-FU uygulanmasından sonra hızlı bir şekilde hücelere girer ve urasil gibi insan nükleozid taşıyıcısı (hNT1 ve hNT2) tarafından hücelere taşınır (79).

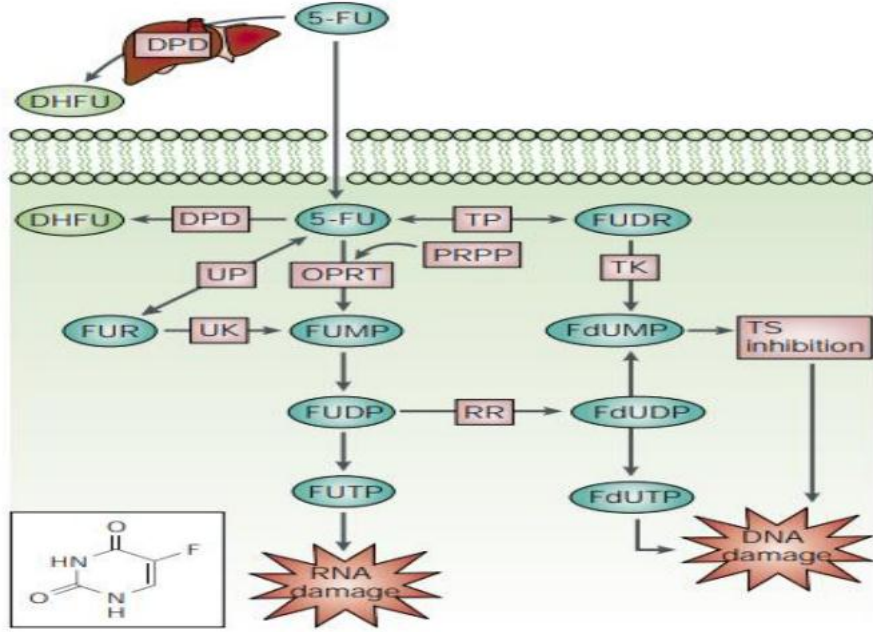
5-Fluorourasil, üç ana aktif metabolite dönüştürülür: florodeoksiüridin monofosfat (FdUMP), florodeoksiüridin trifosfat (FdUTP) ve florouridin trifosfat (FUTP) (85).



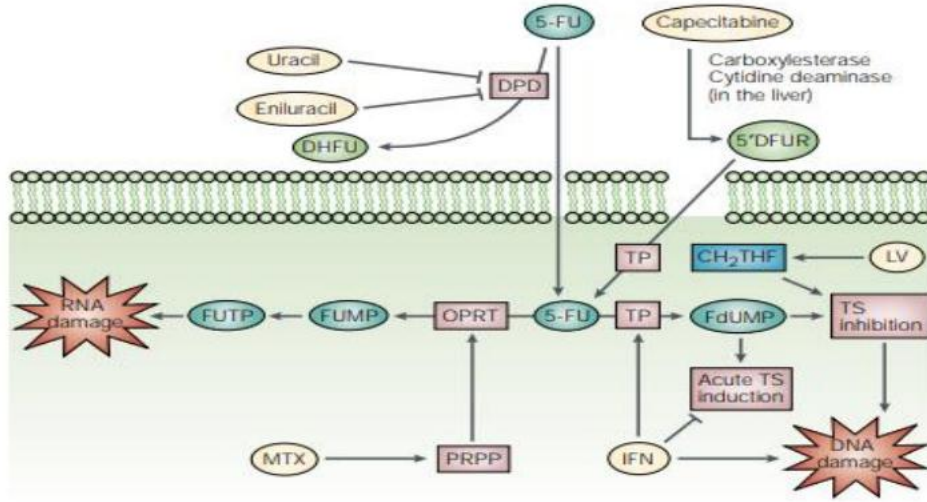
**Şekil 1.22.** 5-FU ve floroprimidin yapıları (5'DUMP, 5'FdUTP ve 5'FUTP) (78).

Florodeoksiüridin monofosfat (FdUMP) timidilat sentazı (TS) ve timidin oluşumunu inhibe ederek DNA onarımını ve replikasyonunu bozar (85). 5-FU aktivasyonunun ana mekanizması, kofaktör olarak fosforibozil pirofosfat (PRPP) ile doğrudan orotat fosforiboziltransferaz (OPRT) ve üridin kinaz (UK) veya üridin fosforilazın (UP) sıralı etkisi yoluyla florouridin (FUR) yoluyla dolaylı olarak florouridin monofosfata (FUMP) dönüşümdür. FUMP daha sonra florouridin difosfata (FUDP) fosforile edilir; bu, ya aktif metabolit florouridin trifosfata (FUTP) fosforile edilebilir veya ribonükleotit redüktaz (RR) ile florodeoksiüridin difosfata (FdUDP) dönüştürülebilir. Buna karşılık, FdUDP, sırasıyla aktif metabolitler FdUTP ve FdUMP'yi oluşturmak için fosforile edilebilir. Alternatif bir aktivasyon yolu, 5-FU'nun daha sonra timidin

kinaz (TK) tarafından FdUMP'ye fosforillenen florodeoksiüridin'e (FUDR) timidin fosforilaz katalizli dönüşümünü içerir (85).



Şekil 1.23. 5-Fluorourasil metabolizması (85).



Şekil 1.24. 5-Fluorourasil aktivesinin modülasyonu (85).

Son 60 yıldır kanser tedavisinde 5-FU'nun önemli bir etkisi olmasına rağmen, son zamanlarda ilaç direnci 5-FU'nun kullanımını önemli ölçüde sınırlamaktadır. Yapılan birçok çalışmada tümörlerin ilaç direncinin üstesinden gelebilecek mekanizmaları belirlenmeye başlanmıştır. 5-FU direnci önlemek ve azaltmak için kemoterapide çeşitli

modülasyonlar önerilmiştir (79). 5-fluorourasilin (5-FU) antikanser aktivitesini artırmak için araştırılan bazı stratejilerin özeti aşağıdaki gibidir.

- Lökovorin (LV), 5,10-metilen tetrahidrofolatın (CH<sub>2</sub>THF) hücre içi havuzunu artırır, böylece florodeoksiüridin monofosfat (FdUMP) tarafından timidilat sentaz (TS) inhibisyonunu artırır.

- Enilurasil ve urasil, 5-FU'nun DPD aracılı bozulmasını inhibe eder. Metotreksatın (MTX) fosforibozil pirofosfat (PRPP) düzeylerini artırarak 5-FU aktivasyonunu arttırdığı düşünülmektedir.

- İnterferonların (IFN'lerin) timidin fosforilaz (TP) aktivitesini arttırdığı, 5-FU tedavisinin neden olduğu akut TS indüksiyonunu ortadan kaldırdığı ve 5-FU aracılı DNA hasarını arttırdığı bildirilmiştir.

- Kapesitabin , karboksilesteraz ve sitidin deaminazın ardışık etkisiyle karaciğerde 5'-deoksi-5-fluorouridine (5'DFUR) dönüştürülen bir 5-FU ön ilaçtır . 5'DFUR, TP tarafından 5-FU'ya dönüştülür (85).

Ana kemoterapötik ajan olan 5-FU, doğal olarak oluşan biyoaktif bileşenlerle kombinasyonu, olumsuz yan etkileri azaltmanın yeni yollarından biridir. Uğuz ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 5-FU ve melatonin'in birlikte sıçan pankreas kanser modeli AR42J hücreleri üzerinde uygulanması sonucunda kanser hücrelerinin mitokondriyal membran depolarizasyonuna ve ROS üretimini indükleyerek apoptozun artmasına neden olduğu bulunmuştur (86).

Yapılan bir çalışmada, 5-FU ve C<sub>60</sub> nanopartikülünün tek tek ve birlikte kullanılmasıyla MCF-7 meme kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Zamana ve doza bağlı olarak 5-FU'nun MCF-7 hücre canlılığı üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu ve C<sub>60</sub> nanopartikülünün MCF-7 hücreleri üzerinde bir etkisinin olmadığı görülmüştür. 5-FU + C<sub>60</sub> birlikte kullanılması sonucunda ise hücreler üzerinde sitotoksik etkisi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca TIGAR proteininin ifadesini indükleyerek hücrelerin apoptoza gitmesine yardımcı olduğu bulunmuştur (87).

## **2.8. Moleküler Kenetlenme (Docking) Çalışmaları**

Moleküler kenetlenme çalışmalarında etken maddenin hedef bölgeye bağlanıp, muhtemel ilaç olabilme potansiyeli araştırılmaktadır. Bu çalışmalarda ligand ve hedef proteinlerin birbirine bağlanabilmesi için belirli konformasyonlarda olmaları gerekmektedir. Bu sebeple moleküllerin veri bankalarından pdb dosya formatıyla indirilen üç boyutlu yapıları kullanılır. Bu yöntemde, üç boyutlu yapısı belli olan 44 ligand-protein bağlanma enerjileri hesaplanıp, ligandın hedef bölgedeki pozisyonu tespit edilir. Moleküler kenetlenmede DOCK, GOLD ve FlexX gibi bazı yazılımlar kullanılmaktadır (88).

Moleküler kenetlenme çalışmalarında üç temel basamak vardır. Birinci aşamada, hedef protein ve etken maddenin üç boyutlu yapısı belirlenir. İkinci aşamada, bilgisayar yazılımları ile protein-ligand bağlanma enerjileri skorlanır. Son aşamada ise skorlanan bağlanma enerjileri sınıflandırıp, bağlanma bölgeleri görüntülenmektedir (89,90).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Hücre Hatları

MDA-MB-453 ve HeLa hücre hatları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji laboratuvarından temin edilmiştir.

##### 3.1.2. Kimyasal ve Reaktifler

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan kimyasal ve reaktifler.

<b>Kullanım Amacı</b>	<b>Kimyasal ve Reaktifler</b>	<b>Ürün Firma Adı</b>
<b>Hücrelerin Rutin Bakımı</b>	RPMI-1640 Medium Fetal Bovin Serum (FBS) Gentamisin Tripsin- EDTA Phosphate Buffered saline (PBS) Dimetil Sülfoksit (DMSO)	Biological Industries, İsrail Biological Industries, İsrail Biological Industries, İsrail Biological Industries, İsrail Biological Industries, İsrail Amresco®, ABD
<b>Hücre İnavazyon Analizleri</b>	Giemsa Çözeltisi Metanol (%100) Formaldehit (%37)	Merck, Almanya Tekkim, Türkiye Tekkim, Türkiye
<b>Çalışmada Kullanılacak Maddeler</b>	Kannabinol (CBN) 5-Fluorourasil (5-FU)	
<b>Migrasyon Deneyi</b>	Giemsa Blue Metanol Formaldehit	Merck, Almanya Merck, Almanya Merck, Almanya

### 3.1.3. Makine ve Teçhizat

**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan makine ve teçhizatlar.

<b>Kullanım Amacı</b>	<b>Makine ve Teçhizat</b>	<b>Ürün Firma Adı</b>
<b>Hücresel çalışma</b>	CO2 İnkübatör Laminar akımlı kabin İnverted mikroskop Mikroskop makinesi Stereo mikroskop	Nüve EC 160, Türkiye Nüve MN 090, Türkiye BAB, Türkiye Leica, Almanya Leica, Almanya
<b>Moleküler Çalışma</b>	Vorteks Mini Santrifüj Cihazı Santrifüj Cihazı Hassas Terazi	IKA® Vortex, ABD Nüve NF 024, Türkiye Nüve NF 400, Türkiye KERN, Almanya
<b>Malzeme Depolanması</b>	Buzdolabı (+4 °C) Buzdolabı (-20 °C) Buzdolabı (-80 °C)	Vestel, Türkiye Vestel, Türkiye
<b>Diğer Cihazlar</b>	Masa Üstü Bilgisayar Dizüstü bilgisayar	Hewlett Packard (Hp), ABD Lenova intel core i5

## 3.2. YÖNTEM

### 3.2.1. Hücre Kültürü

#### 3.2.1.1. MDA-MB-453 ve Hela Hücre Hatlarının İki Boyutlu Olarak Geliştirilmesi

Çalışmada iki hücre hattı da aynı şekilde geliştirilmiştir. %10 (v/v) Fetal Bovin Serum ve %1 (v/v) Gentamisin antibiyotiği eklenmiş RPMI-1640 besiyerinden 12 mL alınıp 75 cm<sup>2</sup>'lik flask içine eklenmiştir. Daha sonra -80 °C'de bulunan dondurulmuş haldeki hücreler çözündürülerek besiyeri içine 1 mL ilave edilmiştir. Hücreler, 37 °C ve %5 CO<sub>2</sub> olarak ayarlanmış inkübatöre kaldırılmıştır. Hücreler gelişip, flask yüzeyinin %80 oranında kaplayacak hale geldikçe pasajlama deneysel çalışmalara devam edilmiştir. Ardından hücre canlılığı tripan mavisi ile değerlendirildi.



Şekil 2.1. MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının 2D olarak geliştirilmesi.

### 3.2.1.2. MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının Sitotoksosite Analizi

İki boyutlu ve üç boyutlu hücre kültüründe büyütülen MDA-MB-453 ve HeLa hücre hatlarına, Kannabinol ve 5-Fluorourasil maddelerinin ayrı ayrı ve kombinasyon halinde belirli dozlarda sitotoksosite analizi gerçekleştirildi.

12 kuyucuklu plakalara tabanının %80'i kaplayacak şekilde hücre sayımı yapılmış iki hücre hattıyla ve temiz medium ile 1000 mL'ye tamamlayarak ekim yapıldı. 37°C'de %5'lik CO<sub>2</sub> inkübatöründe inkübasyona bırakıldı. Daha sonra hesaplaması yapılmış olan CBN bileşiği ve 5-FU ilacının dozları ekim yapılarak hücrelere verildi. Hücrelerin 24 – 48 – 72. saatlerdeki fotoğrafları çekildi.

Tablo 3.3. CBN ve 5-FU maddelerinin hücreler için doz optimizasyonu.

CBN	5-FU
1 µM	1 µM
5 µM	2,5 µM
10 µM	5 µM
25 µM	10 µM
50 µM	50 µM
100 µM	100 µM
200 µM	
300 µM	

### **3.2.1.3. MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının Yara İyileştirme (Migrasyon) Deneyi**

İki hücre hattında da metastatik kabiliyetini belirlemek için hücre göç analizi yapılmıştır. Bu deneyin amacı, hücre tiplerinin kendiliğinden ne kadar iyi göç ettiğini veya kullanılan ilaçlara nasıl tepki verebileceğini ve ona doğru yönel olarak göç edebileceğinin anlaşılmasını sağlamaktır (91).

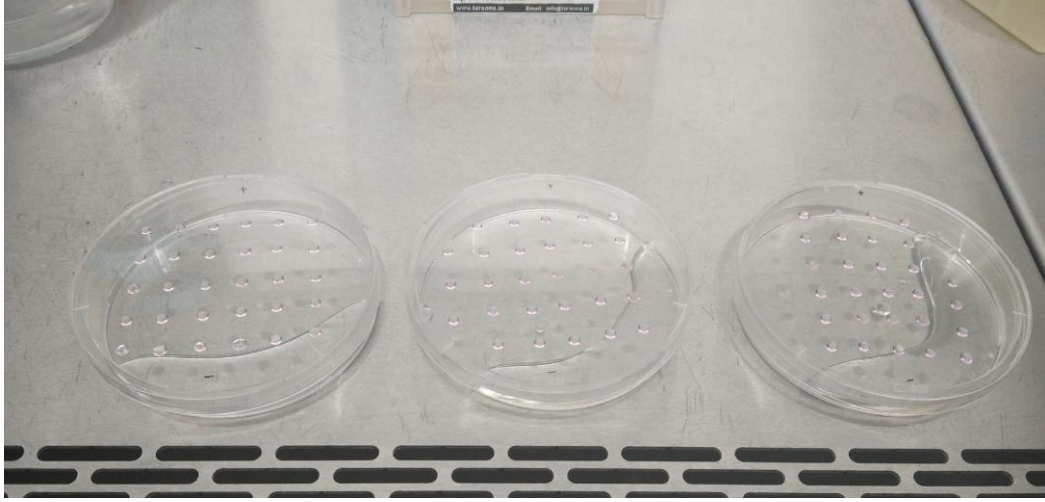
İlk olarak 12 kuyucuklu bir plaka içerisinde her kuyucuğa yaklaşık  $2 \times 10^5$  hücre ekimi yapılmıştır ve  $37^\circ\text{C}$ 'de %5'lik  $\text{CO}_2$  inkübatöründe 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda hücrelerin yüzeyi kapladığı gözlemlenmiştir ve 10  $\mu\text{L}$  pipet ucu yardımıyla tek bir hamlede hücreye çizgi çekilmiştir. (92). Yara açılan hücreler belirlenen dozlarda maddeler verilmiştir ve tekrardan inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda maddeler uygulanmış hücreler 24, 48, ve 72 saat sonunda kontrol grubu ile kıyaslanarak, maddelerin yarayı kapatmadaki etkisi belirlemek için inverted mikroskop altında yaranın fotoğrafı çekilmiştir. ImageJ programı kullanılarak değerlendirilmiştir (93).

### **3.2.1.4. MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının İnvazyon Deneyi**

İnvazyon deneyi, hücrelerin invazyon yeteneğini belirlenmesi metastatik fenotip için önemli deneylerden biridir. Bu deney ile maddelerin verilen hücrelerin çekirdek yapılarının değişimlerini belirlenir. Hücreler 12 kuyucuklu bir plaka içerisinde her kuyucuğa yaklaşık  $2 \times 10^5$  hücre ekimi yapılmıştır ve  $37^\circ\text{C}$ 'de %5'lik  $\text{CO}_2$  inkübatöründe 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tabanın %80'i hücreler ile kaplanınca belirlenen dozlarda maddeler hücrelere verilmiştir. Bir gün sonra plaka içerisindeki kirli besiyeri çekilir ve PBS ile yıkanır ve PBS alınır. Kuyucukların üzerine 1 mL %10 formaldehit ile 2 dakika muamele edilerek hücrelerin tabana sabitlenmesi sağlanmaktadır. Daha sonra formaldehit çekilir ve PBS ile yıkanır. 500 mL Giemsa boyası kuyucuklara eklenir. Üstünü hiç ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile kapatılıp 20 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir. Son olarak 20 dakika sonra Giemsa boyası uzaklaştırılıp iki kez PBS ile yıkanmıştır. Boyama işlemi 3 gün boyunca yapılarak 24, 48 ve 72 saat fotoğrafları çekilmiştir. ImageJ programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

### 3.2.1.5. MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatlarının Üç Boyutlu (3B) Geliştirilmesi

MDA-MB-453 ve HeLa hücre hatları üç boyutlu olarak geliştirilmesi asılı damlama yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 10.000 hücre/mL steril bir petri kapağına şekilde görüldüğü gibi (şekil 2.2.) 10 mL kadar bırakılmıştır. Su kaybını önlemek için petri kabının alt kısmına steril PBS eklenmiştir. Petri kutuları, 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (94).



Şekil 2.2. Kanser hücrelerinin 3B geliştirilmesi.

Hücre hatlarının asılı damlama yönteminde küresel olarak etkin bir şekilde büyüme sağlanması için her gün kuyucuklara 5 mL taze besiyeri dikkatlice eklenmiştir. Hücreler beklediği süre boyunca küresel şekil alarak 200-300 mikron boyuta ulaşmıştır. İnkübasyon sonrası 3B oluşmuş hücrelere farklı konsantrasyonlarda optimizasyon çalışması yapılarak belirlenen doz miktarları 10 mL verilmiştir ve fotoğrafları çekilmiştir.

### 3.2.1.6. Moleküler Kenetlenme (Docking) Çalışması

Moleküler kenetlenme çalışması, protein hazırlığı, ligand hazırlığı ve kenetlenme hesaplaması olmak üzere 3 basamakta gerçekleştirilecektir.

#### 3.2.1.6.1. Protein Hazırlığı

Çalışmada gen ekspresyon düzeyleri sonucuna göre apoptotik kanser yollarında etkili olduğu tespit edilen proteinlerin üç boyutlu yapıları protein veri bankasından pdb dosya formatında indirilecektir (Şekil 2.3.) (<https://www.rcsb.org/>)

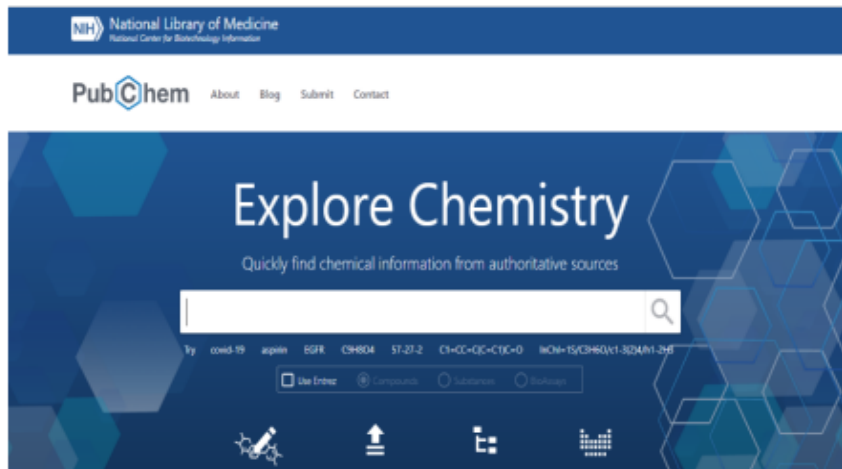


Şekil 2.3. Protein veri bankası (<https://www.rcsb.org/>).

### 3.2.1.6.2. Ligand hazırlığı

QTOF-LC/MS analizi sonucunda belirlenen metabolitlerin üç boyutlu yapıları, PubChem veri bankasından pdb dosya formatıyla indirilecektir (Şekil 2.4.)

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)



Şekil 2.4. Kimyasal moleküllerin veri bankası (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

### 3.2.1.6.3. Kenetlenme hesaplaması

Protein ve ligandın üç boyutlu yapıları AutoDock (ADT) programı kullanılarak çalıştırılarak program aracılığıyla öncelikle protein yapısındaki sular kaldırılıp, polar hidrojen bağlar eklenecektir. Daha sonra Kollman ve Gasteiger yükleri tüm yapıya dağıtılacaktır. Hazır hale getirilen protein pdbqt formatında kaydedilip, daha sonra ligand molekülünün torsiyon kökleri ve torsiyon sayıları belirlenecektir. Ligand da

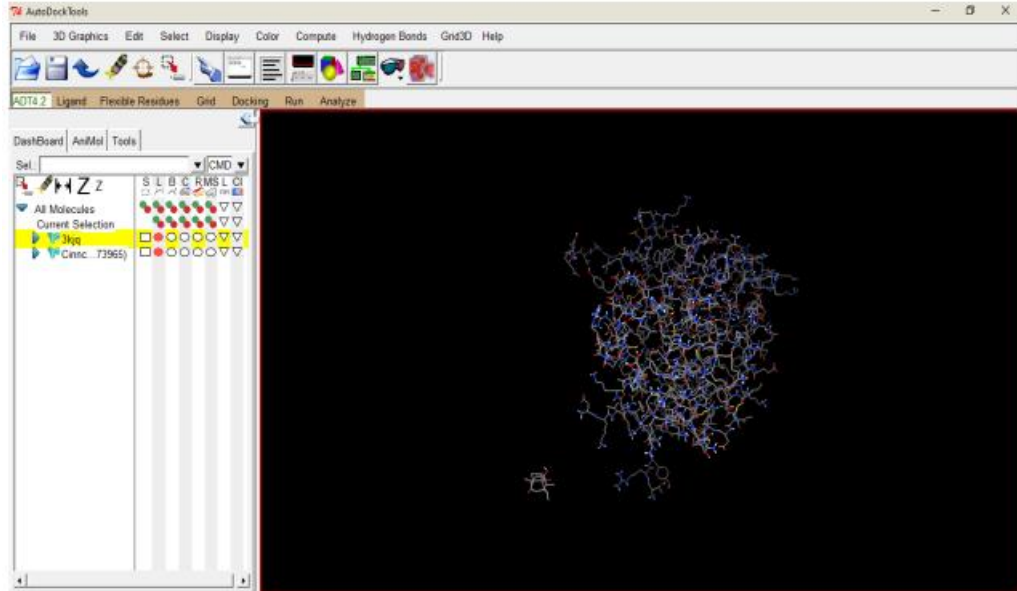
pdbqt formatında kaydedilip, daha sonra ligand ve protein yapıları bir araya getirilip, sınırları bir kutucuk içine alınmış ve grid parametreleri girilecektir. En son aşamada, hesaplama işlemini başlatmak için Windows komut sistemine gerekli komut girilip, bağlanma enerjileri (kcal/mol) belirlenecektir (Şekil 2.5.) (Şekil 2.6.) (Şekil 2.7.) (110).

Hesaplama işlemini başlatmak için gerekli komut:

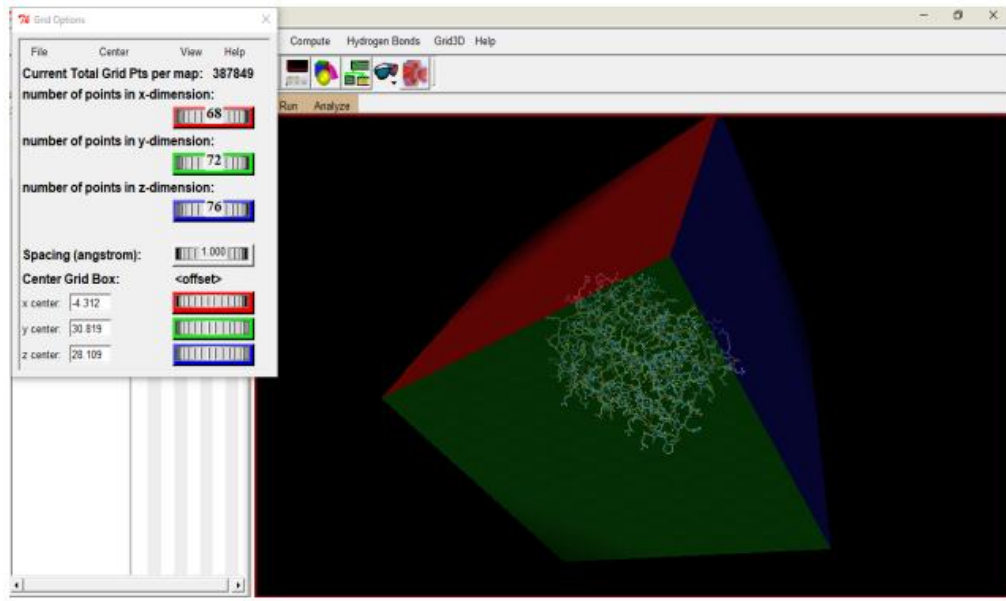
vina.exe --config config.txt --log log.txt --out ligand\_out.pdbqt

Hesaplama sonundaki skorumları bölmek için gerekli komut:

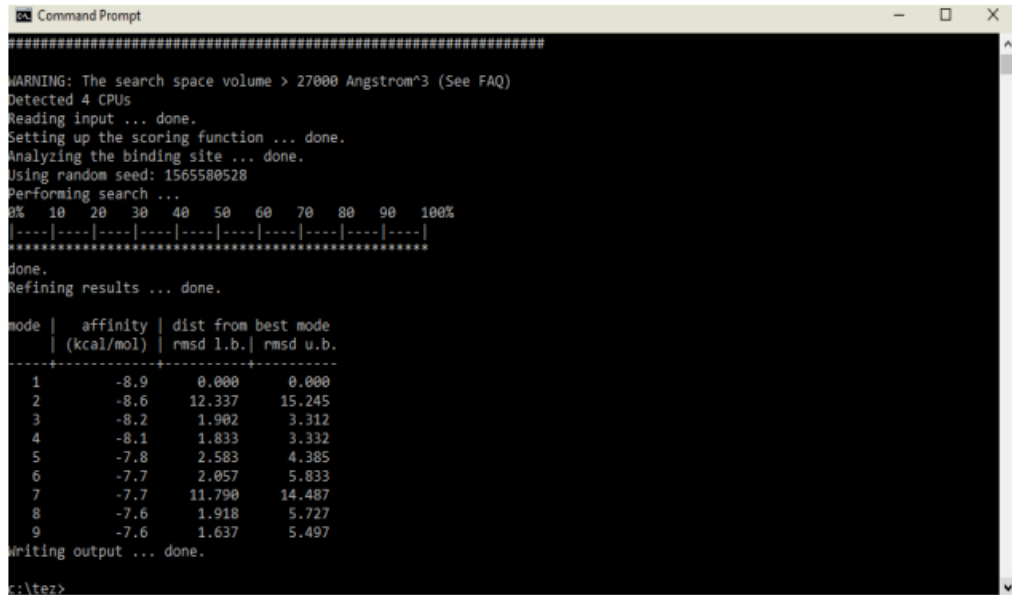
vina\_split --input ligand\_out.pdbqt



Şekil 2.5. Moleküler kenetlenme uygulamasından görüntü.



Şekil 2.6. Moleküler kenetlenme uygulamasından görüntü.



Şekil 2.7. Moleküler kenetlenme uygulamasından görüntü.

Moleküllerin etkileşimleri ve oluşturdukları hidrojen (H) bağları Molegro Molecular Viewer programı ile görüntülenecektir.

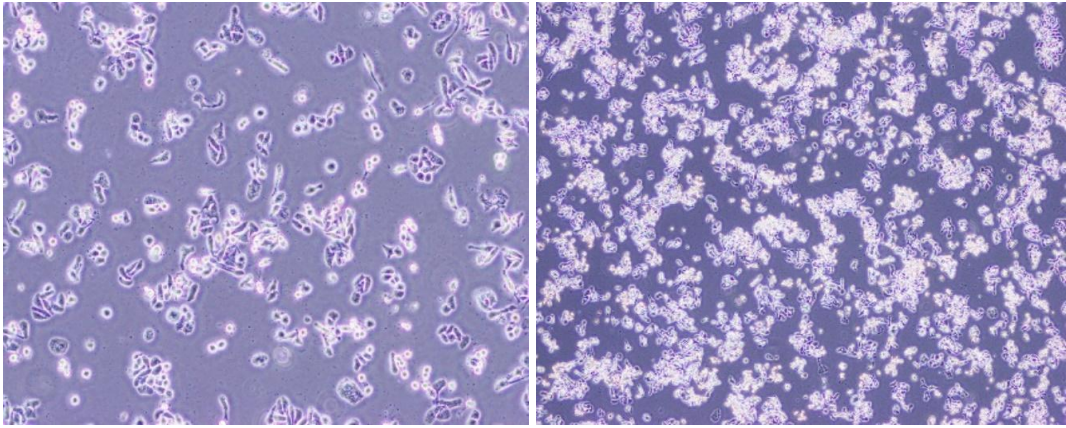
Moleküler dinamik (MD) simülasyon analizi Ligand ve protein kompleksinin simülasyonu WebGro ücretsiz yazılımı kullanılarak gerçekleştirilecektir. Ligand ve protein kompleksi arasındaki stabilitenin kontrol edilmesi amacıyla 50 nanosaniye (ns) boyunca MD simülasyonu yapılacaktır (95).

## 4. BULGULAR

### 4.1.Bulgular

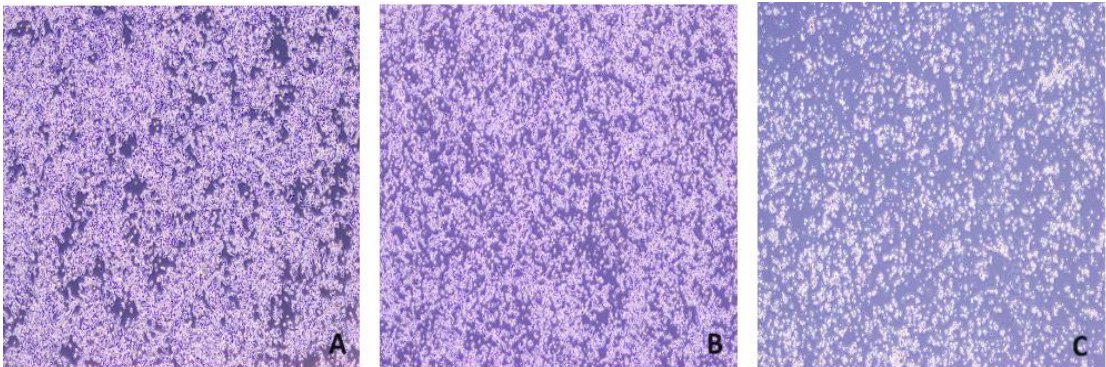
#### 4.1.1. İki Boyutlu MDA-MB-453 Hücre Hattı

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı, 12'li kuyucuklara ekim yapıpı tabanın %80'i kaplandıktan sonra (Tablo 3.2.) maddeler belirlenen dozlarda 1mL besiyeri içine hesaplanarak hücelere verildi. Daha sonra 24, 48 ve 72. saat aralıklarla hücrelerin yapısı incelenmek için fotoğrafları çekildi.



Şekil 3.1. MDA-MB-453 hücre hattı 20x ve 10x morfolojik görüntüsü.

A: MDA-MB-453 kontrol 24. Saat (20x) B: MDA-MB-453 kontrol 48. Saat

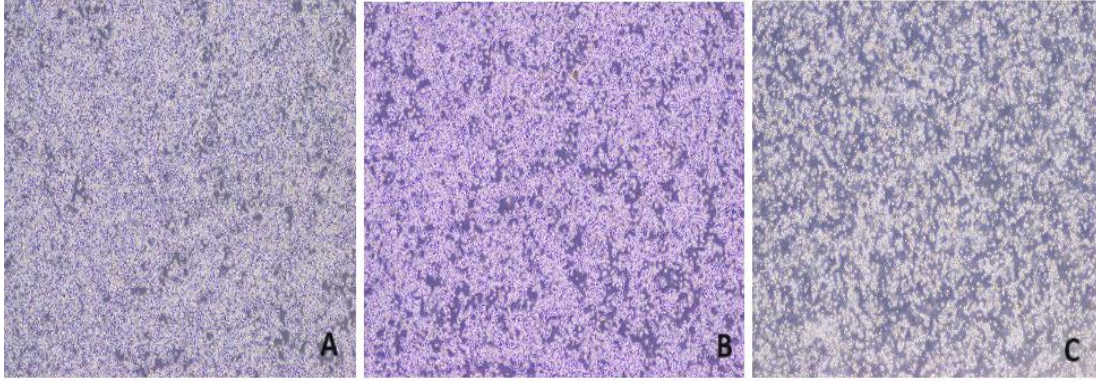


Şekil 3.2. İki boyutlu olarak geliştirilmiş MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 kontrol 24. Saat B: MDA-MB-453 kontrol 48. Saat C: MDA-MB-453 kontrol 72. Saat

#### 4.1.1.1. 10 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücrelerine 10 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

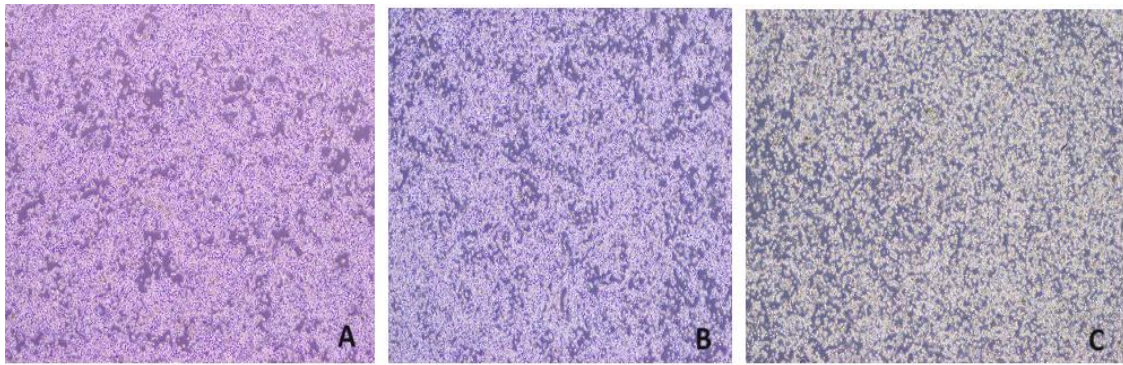


**Şekil 3.3.** 10 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453, 10 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 10 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 10 µM 72. Saat

#### 4.1.1.2. 25 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 25 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

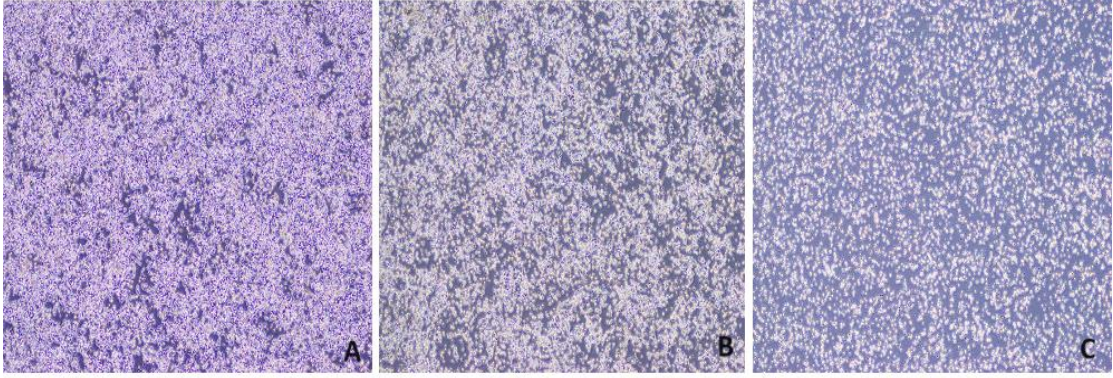


**Şekil 3.4.** 25 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453, 25 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 25 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 25 µM 72. Saat

#### 4.1.1.3. 50 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 50 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

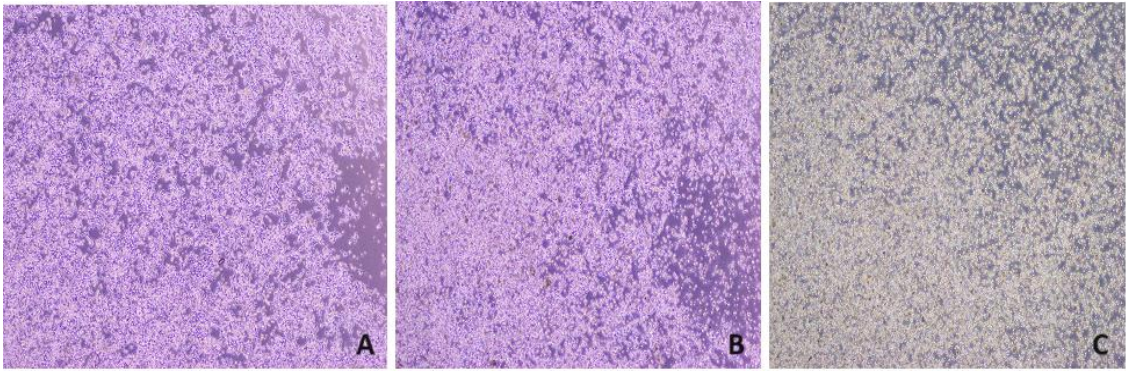


**Şekil 3.5.** 50 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453, 50 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 50 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 50 µM 72. Saat

#### 4.1.1.4. 100 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 100 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

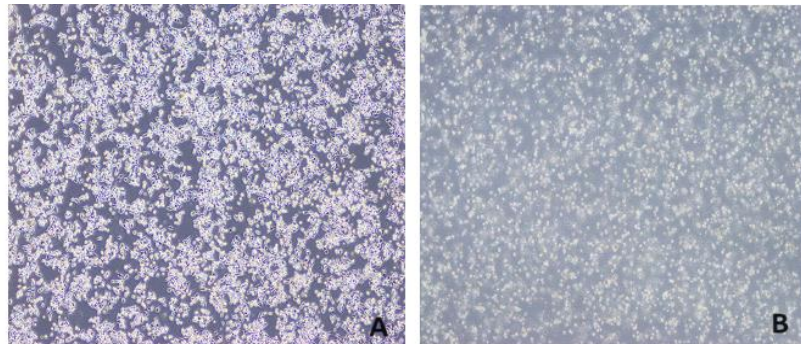


**Şekil 3.6.** 100 µM CBN verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453, 100 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 100 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 100 µM 72. Saat

#### 4.1.1.5. 1 µM 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 1 µM 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

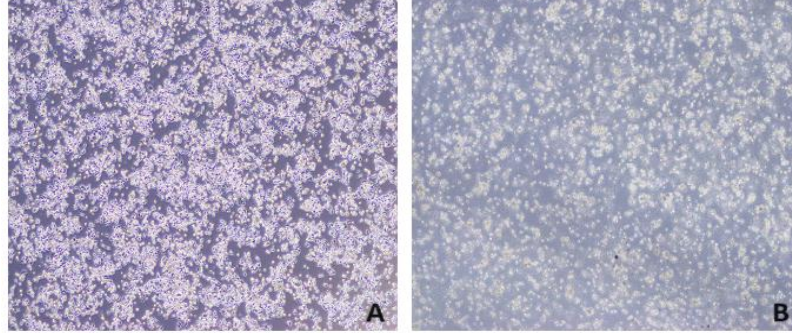


**Şekil 3.7.** 1  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 1 $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 1 $\mu\text{M}$  48 Saat

#### 4.1.1.6. 5 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 5  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

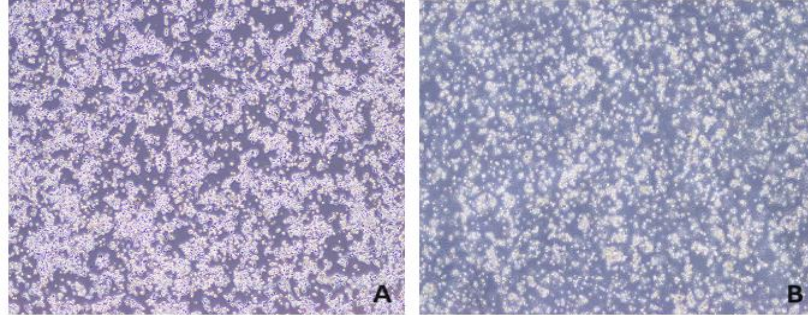


**Şekil 3.8.** 5  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 5 $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 5 $\mu\text{M}$  48 Saat

#### 4.1.1.7. 10 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 10  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

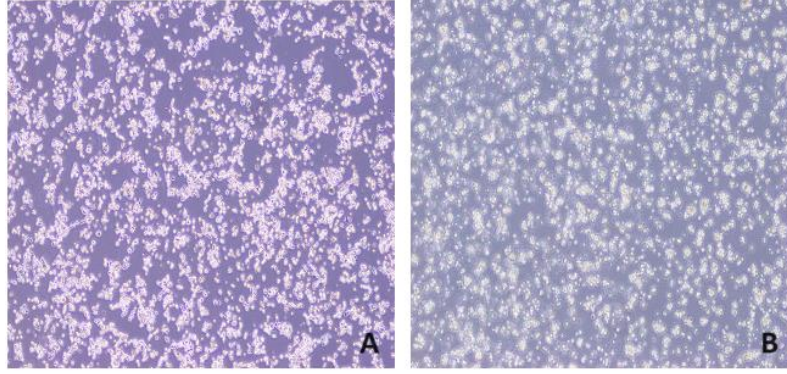


**Şekil 3.9.** 10  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  48 Saat

#### 4.1.1.8. 50 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 50  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

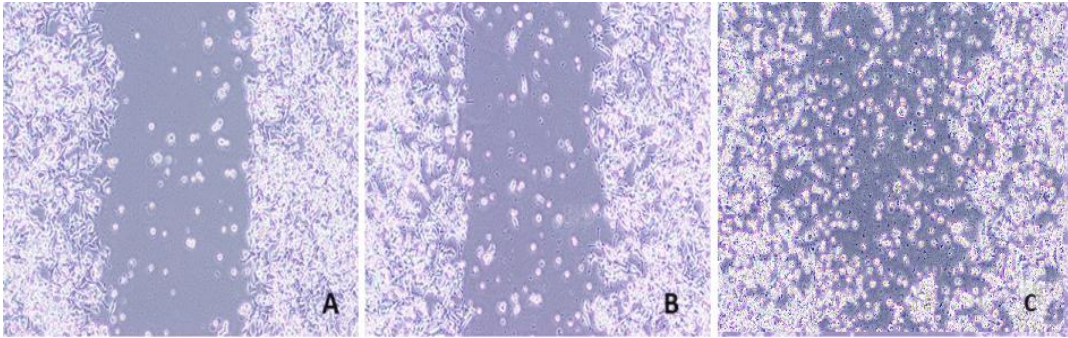


**Şekil 3.10.** 50 µM 5-FU verilmiş İki Boyutlu MDA-MB-453 hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 50 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 50 µM 48 Saat

#### 4.1.2. MDA-MB-453 Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları

Çalışmamızda MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı 12'li kuyucuklara ekim yapıp tabanın %80'i hücreler ile kaplandıktan sonra (tablo 3.2) maddeler belirlenen dozlarda 1mL besiyeri içine hesaplanarak hücrelere verildi. Daha sonra 3.2.1.5.'de anlatıldığı şekilde yara açıldı. Yaranın açıldığı an 0. Saat olarak belirlendi. İlaç uygulanan hücre hattına yara açıklığı 24, 48 ve 72. Saatlerde değerlendirildi.

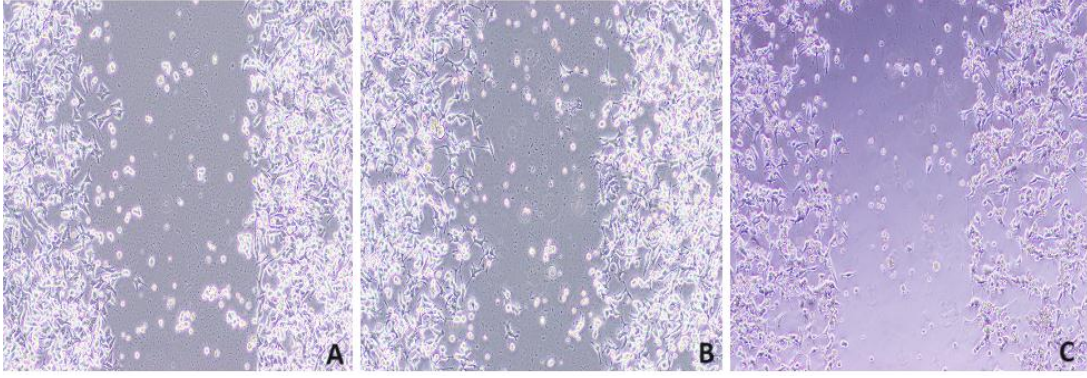


**Şekil 3.11.** Kontrol MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 kontrol 24. Saat B: MDA-MB-453 kontrol 48. Saat C: MDA-MB-453 kontrol 72. Saat

##### 4.1.2.1. 25 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 25 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

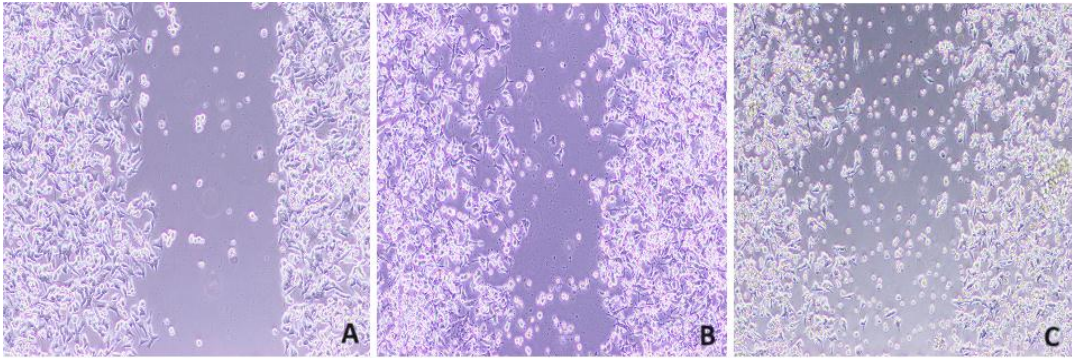


**Şekil 3.12.** 25 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 25 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 25 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 25 µM 72. Saat

#### 4.1.2.2. 50 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 50 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

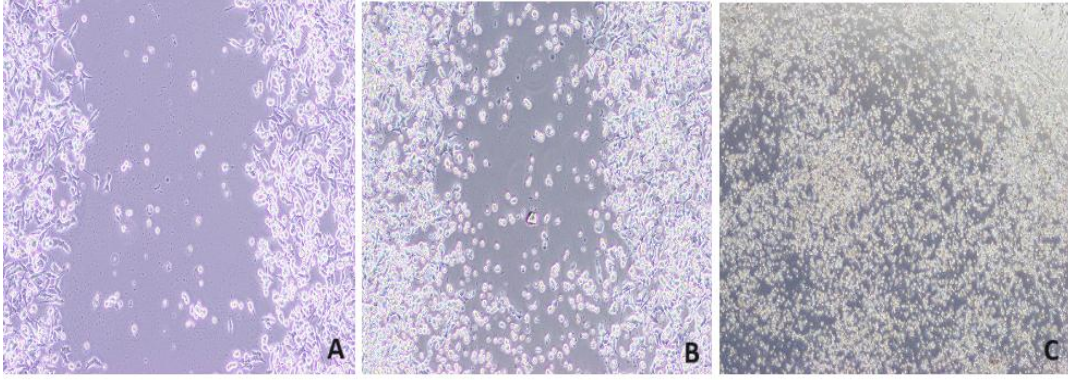


**Şekil 3.13.** 50 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 50 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 50 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 50 µM 72. Saat

#### 4.1.2.3. 100 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 100 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

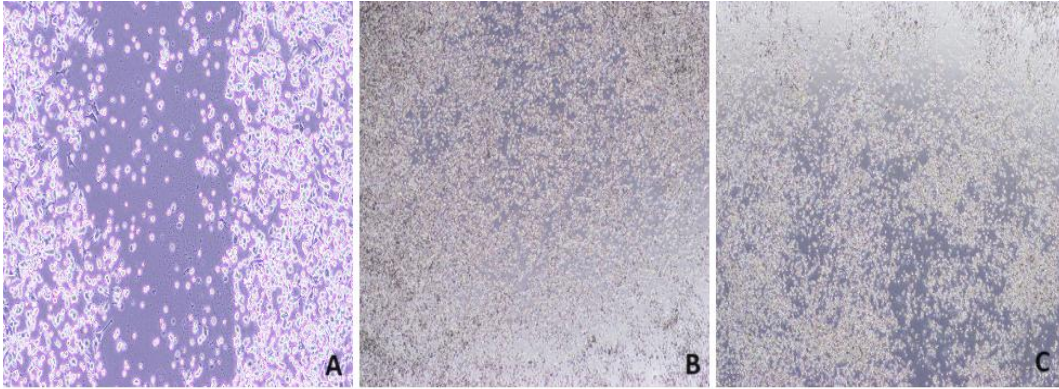


**Şekil 3.14.** 100 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 100 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 100 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 100 µM 72. Saat

#### 4.1.2.4. 5 µM 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 5 µM 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

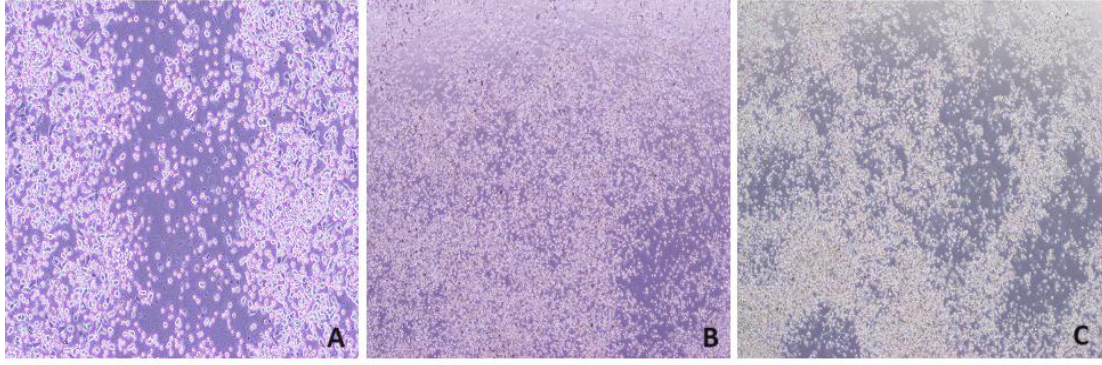


**Şekil 3.15.** 5 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 5 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 5 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 5 µM 72. Saat

#### 4.1.2.5. 10 µM 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 10 µM 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

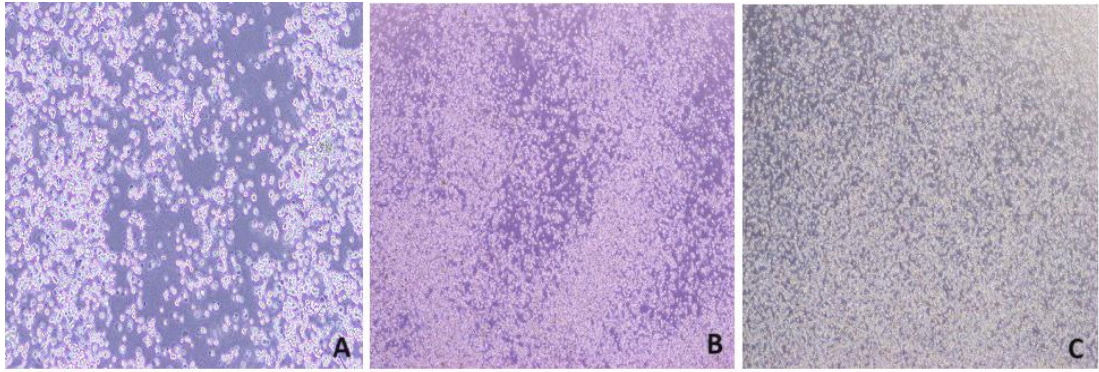


**Şekil 3.16.** 10  $\mu\text{M}$  CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  48. Saat C: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.2.6. 50 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 50  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

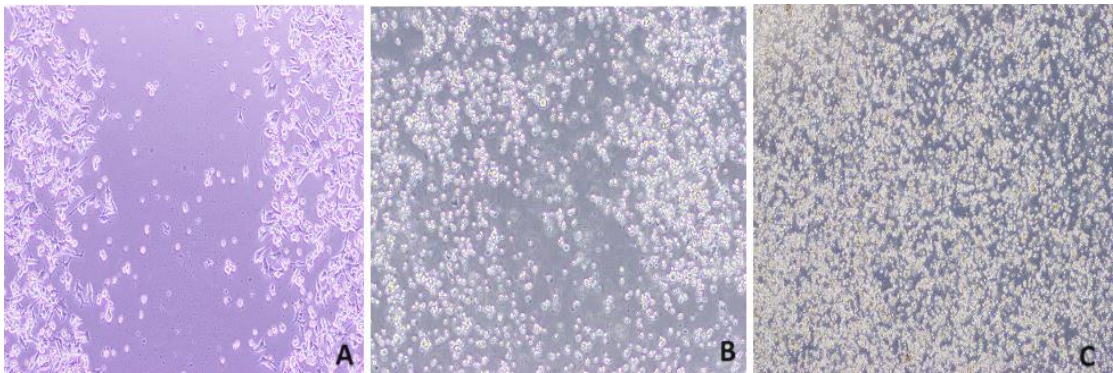


**Şekil 3.17.** 50  $\mu\text{M}$  CBN verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 50  $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 50  $\mu\text{M}$  48. Saat C: MDA-MB-453 50  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.2.7. 100 $\mu\text{M}$ CBN + 1 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 100  $\mu\text{M}$  CBN ve 1  $\mu\text{M}$  5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

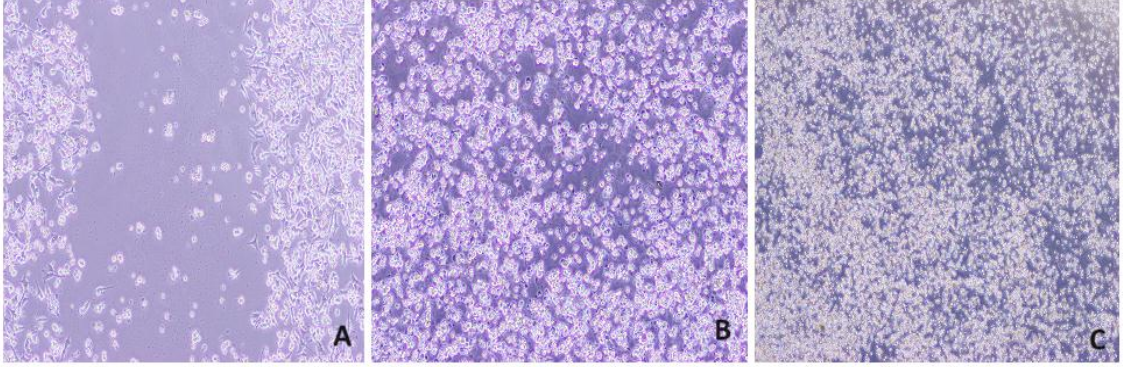


**Şekil 3.18.** 100  $\mu$ M CBN + 1  $\mu$ M 5-FU verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 100  $\mu$ M+1  $\mu$ M 24. Saat B: MDA-MB-453 100  $\mu$ M+1  $\mu$ M 48. Saat C: MDA-MB-453 100  $\mu$ M+1  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.2.8. 200 $\mu$ M CBN + 2 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 200  $\mu$ M CBN ve 2  $\mu$ M 5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

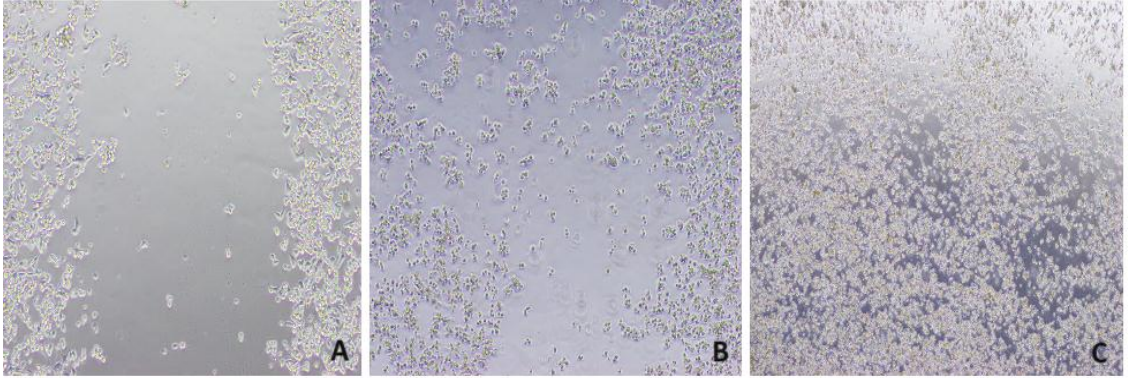


**Şekil 3.19.** 200  $\mu$ M CBN + 2  $\mu$ M 5-FU verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 200  $\mu$ M+2  $\mu$ M 24. Saat B: MDA-MB-453 200  $\mu$ M+2  $\mu$ M 48. Saat C: MDA-MB-453 200  $\mu$ M+2  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.2.9. 300 $\mu$ M CBN + 5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 300  $\mu$ M CBN ve 5  $\mu$ M 5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.



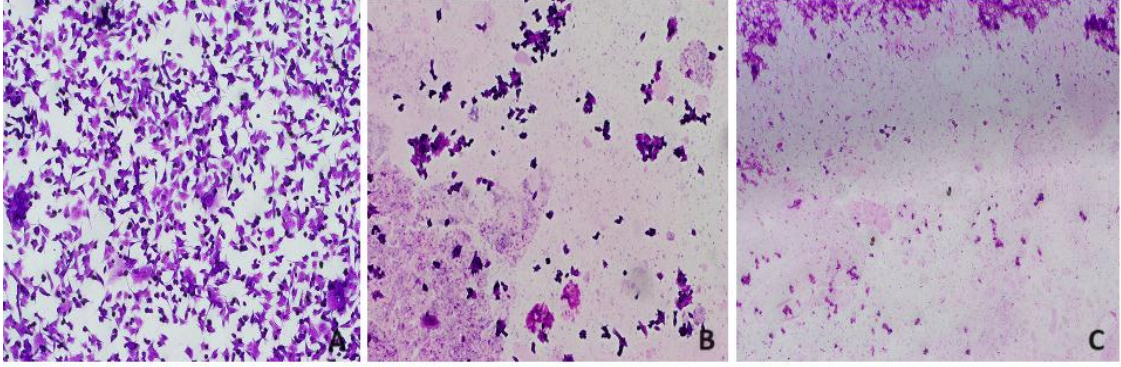
**Şekil 3.20.** 300  $\mu$ M CBN + 5  $\mu$ M 5-FU verilmiş MDA-MB-453 Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 300  $\mu$ M+5  $\mu$ M 24. Saat B: MDA-MB-453 300  $\mu$ M+5  $\mu$ M 48. Saat C: MDA-MB-453 300  $\mu$ M+5  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.3. MDA-MB-453 İnvazyon Deney Sonuçları

Kanser hücrelerinin metastaz yeteneğinin araştırılması için invazyon yöntemi kullanılmaktadır. Çalışmamızda, MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına uygulanan maddelerin invazyon yeteneğine etkisi boyama deneyi yapılarak görüntülenmiştir.

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı 12'li kuyucuklara ekim yapıp tabanının %80'i kaplandıktan sonra (tablo 3.2) maddeler belirlenen dozlarda 1mL besiyeri içine hesaplanarak hücrelere verildi. Daha sonra 3.2.1.6.'de anlatıldığı şekilde boyama yapılmıştır. Boyama her 24 saatte bir yapılarak fotoğrafları çekildi.

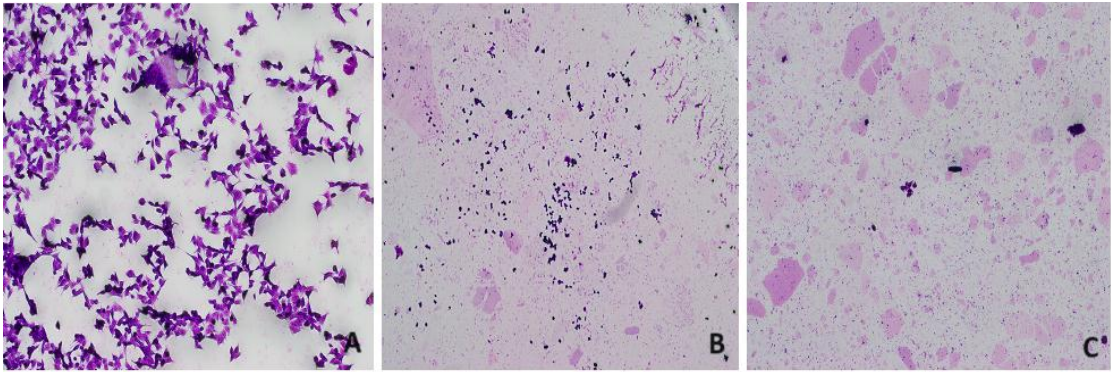


**Şekil 3.21.** Kontrol MDA-MB-453 Hücre Hattı İnvazyon Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 kontrol 24. Saat B: MDA-MB-453 kontrol 48. Saat C: MDA-MB-453 kontrol 72. Saat

#### 4.1.3.1. 25 $\mu$ M CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 25  $\mu$ M CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

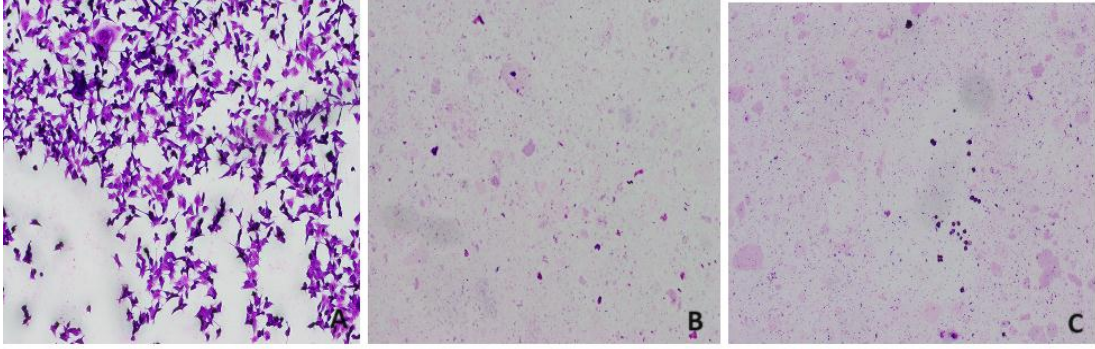


**Şekil 3.22.** 25  $\mu$ M CBN verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 25  $\mu$ M 24. Saat B: MDA-MB-453 25  $\mu$ M 48. Saat C: MDA-MB-453 25  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.3.2. 50 $\mu$ M CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 50  $\mu$ M CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

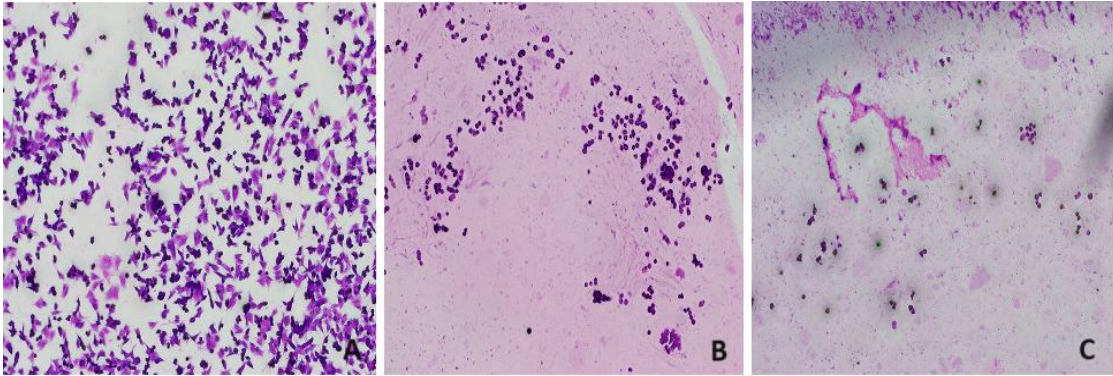


**Şekil 3.23.** 50 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 50 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 50 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 50 µM 72. Saat

#### 4.1.3.3. 100 µM CBN Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 100 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

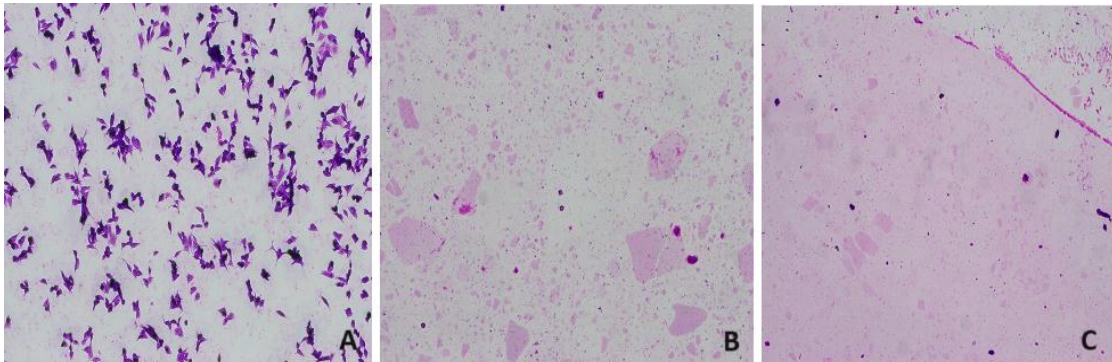


**Şekil 3.24.** 100 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 100 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 100 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 100 µM 72. Saat

#### 4.1.3.4. 1 µM 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 1 µM 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

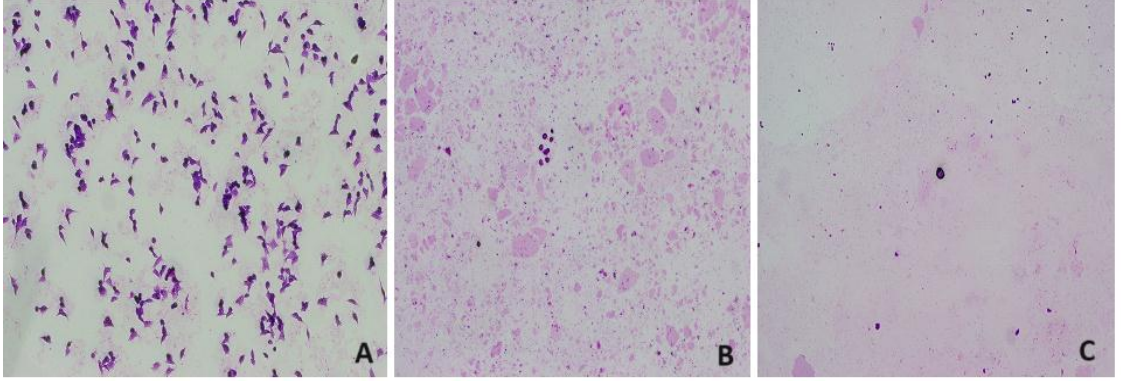


**Şekil 3.25.** 1  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 1  $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 1  $\mu\text{M}$  48. Saat C: MDA-MB-453 1  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.3.5. 5 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 5  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

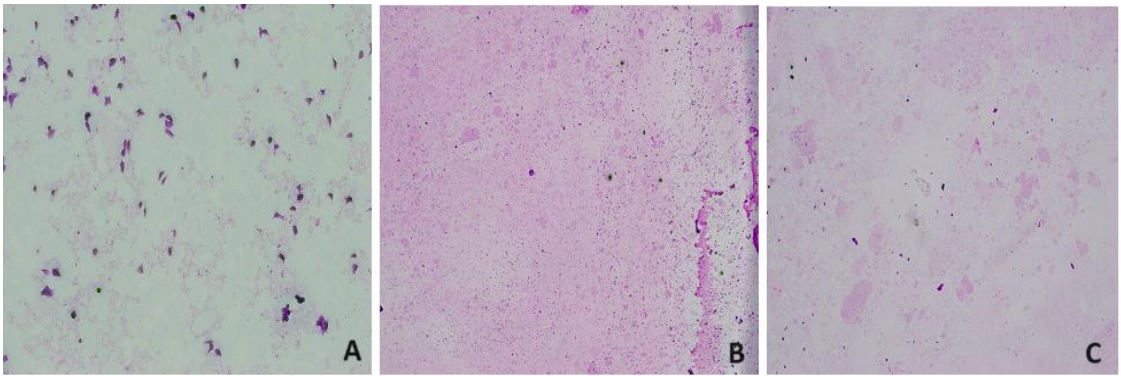


**Şekil 3.26.** 5  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 5  $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 5  $\mu\text{M}$  48. Saat C: MDA-MB-453 5  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.3.6. 10 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 10  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

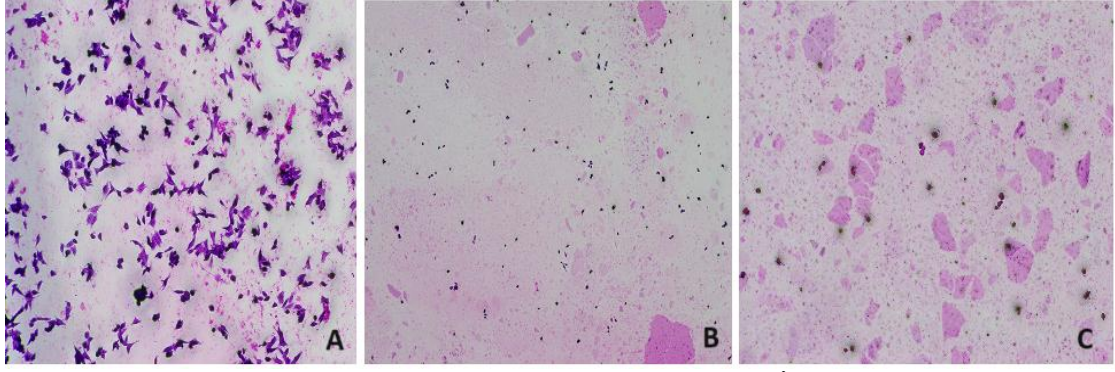


**Şekil 3.27.** 10  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  24. Saat B: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  48. Saat C: MDA-MB-453 10  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.3.7. 100 $\mu\text{M}$ CBN + 1 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 100  $\mu\text{M}$  CBN bileşiği ve 1  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

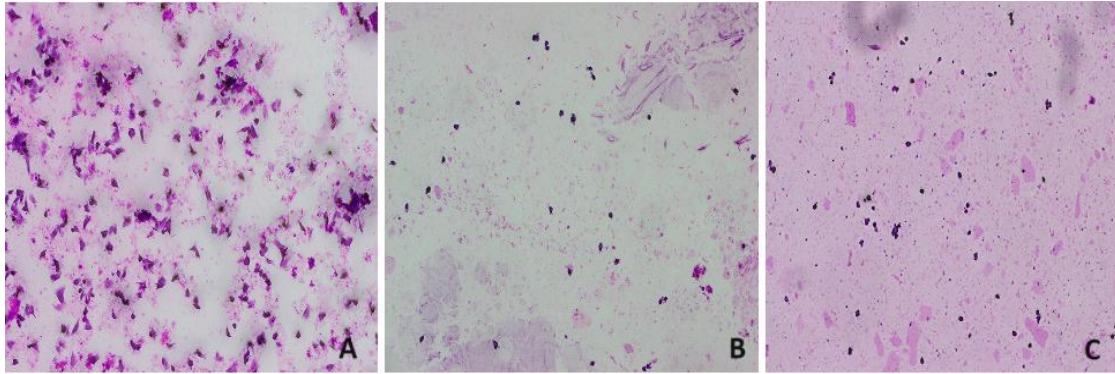


**Şekil 3.28.** 100 µM CBN + 1 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 100 µM CBN + 1 µM 5-FU 24. Saat B: MDA-MB-453 100 µM CBN + 1 µM 5-FU 48. Saat C: MDA-MB-453 100 µM CBN + 1 µM 5-FU 72. Saat

#### **4.1.3.8. 200 µM CBN + 2 µM 5-FU Sonuçları**

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 200 µM CBN bileşiği ve 2 µM 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

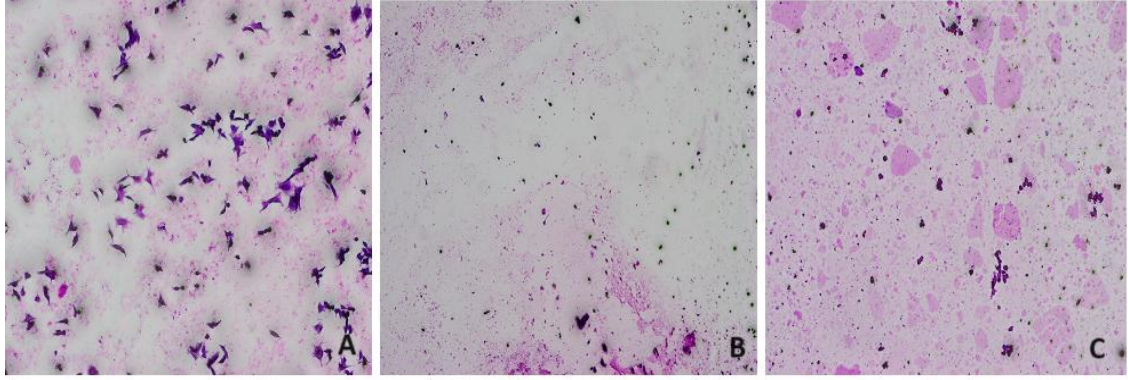


**Şekil 3.29.** 200 µM CBN + 2 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 200 µM CBN + 2 µM 5-FU 24. Saat B: MDA-MB-453 200 µM CBN + 2 µM 5-FU 48. Saat C: MDA-MB-453 200 µM CBN + 2 µM 5-FU 72. Saat

#### **4.1.3.9. 300 µM CBN + 5 µM 5-FU Sonuçları**

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına 300 µM CBN bileşiği ve 5 µM 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.



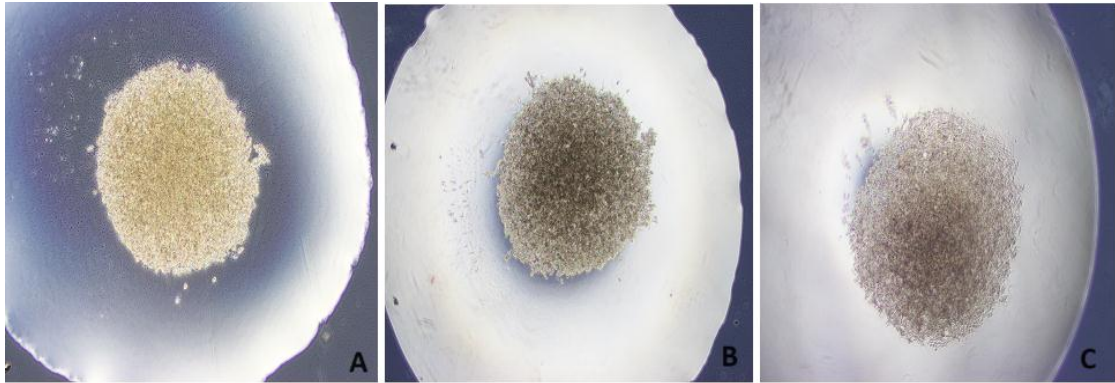
**Şekil 3.30.** 300 µM CBN + 5 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 İnvazyon Deneý Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 300 µM CBN + 5 µM 5-FU 24. Saat B: MDA-MB-453 300 µM CBN + 5 µM 5-FU 48. Saat C: MDA-MB-453 300 µM CBN + 5 µM 5-FU 72. Saat

#### 4.1.4. MDA-MB-453 3-Boyutlu Deneý Sonuçları

Hücrelerin 3B olarak geliştirilmesinde asılı damlama yöntemi kullanılmıştır. Yaklaşık 10.000 hücre/mL steril bir petri kutusunun kapağına şekilde görüldüğü gibi 10 mL kadar hücre bırakıldı. Su kaybının olmaması için petri kutusunun alt kısmına steril PBS eklendi. Petri kutuları 37 °C’de, %5 CO2 inkübatöründe 48 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrasında 3B olarak geliştirilmiş hücelere belirlenen konsantrasyonlarda (tablo 3.2) maddeler verildi ve yeniden inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda CBN’nin ve 5-FU ilacının ayrı ayrı ve kombinasyon halinde hücrelerin küresel yapısı üzerindeki etkileri 24, 48 ve 72 saat fotoğrafları çekilerek değerlendirildi.

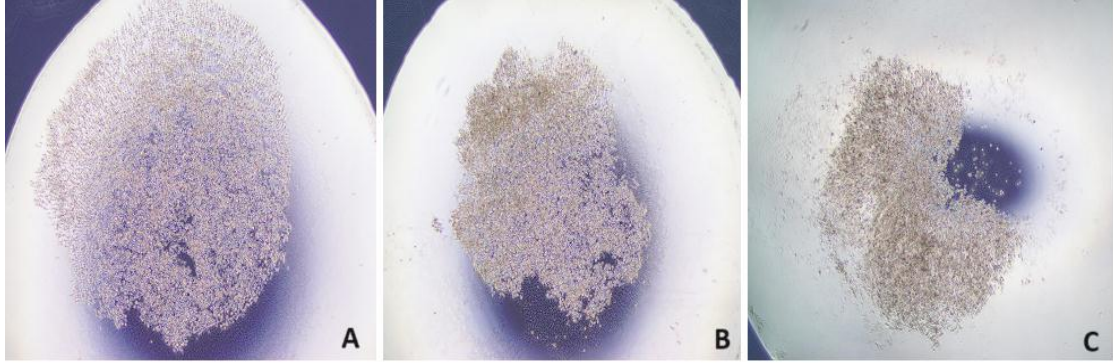


**Şekil 3.31.** Kontrol MDA-MB-453 Hücre Hattı 3Boyutlu Deneý Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 kontrol 24. Saat B: MDA-MB-453 kontrol 48. Saat C: MDA-MB-453 kontrol 72. Saat

#### 4.1.4.1. 100 µM CBN Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 100 µM CBN verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

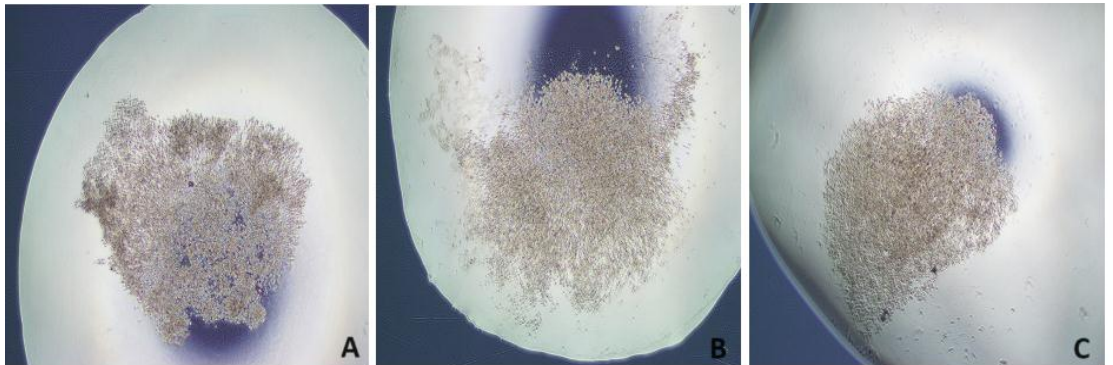


**Şekil 3.32.** 100 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 100 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 100 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 100 µM 72. Saat

#### 4.1.4.2. 200 µM CBN Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 100 µM CBN verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

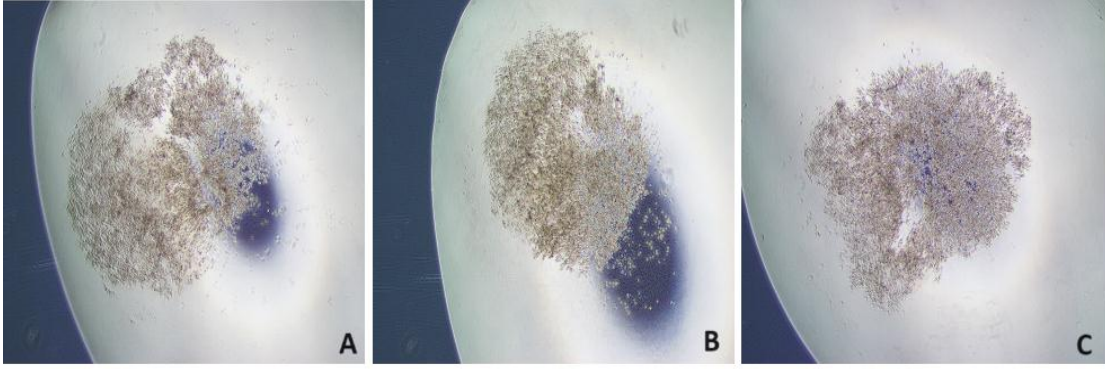


**Şekil 3.33.** 200 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 200 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 200 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 200 µM 72. Saat

#### 4.1.4.3. 300 µM CBN Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 100 µM CBN verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

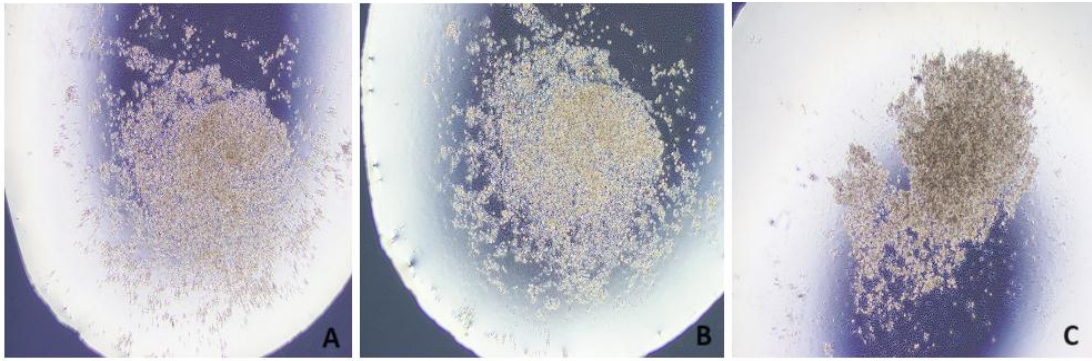


**Şekil 3.34.** 300 µM CBN verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 300 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 300 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 300 µM 72. Saat

#### 4.1.4.4. 1 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 1 µM 5-FU ilaç verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

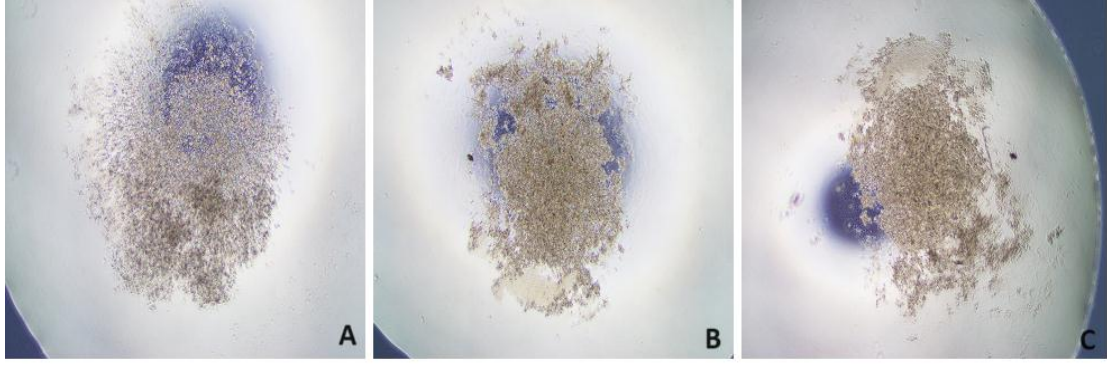


**Şekil 3.35.** 1 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 1 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 1 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 1 µM 72. Saat

#### 4.1.4.5. 2 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 2 µM 5-FU ilaç verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

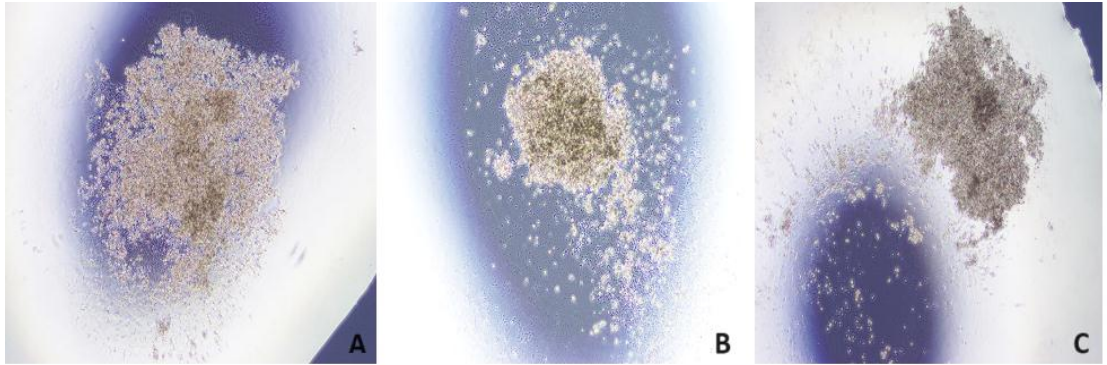


**Şekil 3.36.** 2 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deneý Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 2 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 2 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 2 µM 72. Saat

#### **4.1.4.6. 5 µM 5-FU Sonuçları**

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 5 µM 5-FU ilaç verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

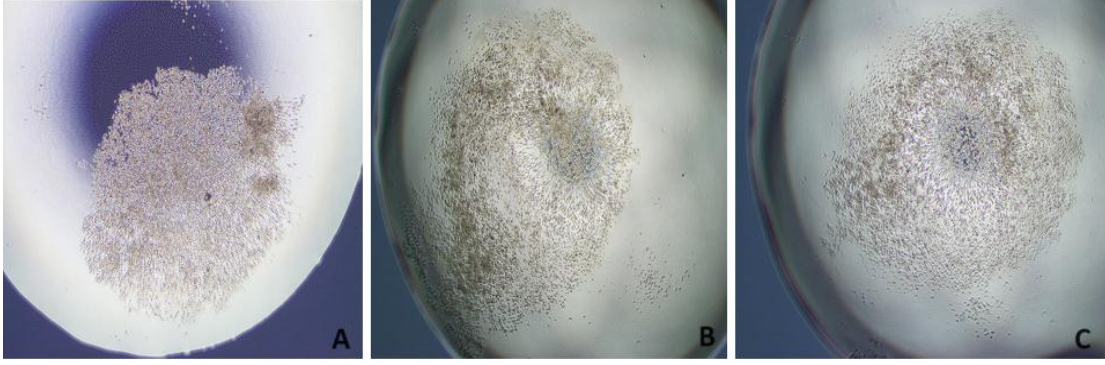


**Şekil 3.37.** 5 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deneý Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 5 µM 24. Saat B: MDA-MB-453 5 µM 48. Saat C: MDA-MB-453 5 µM 72. Saat

#### **4.1.4.7. 100 µM CBN + 1 µM 5-FU Sonuçları**

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 100 µM CBN bileşiiği ve 1 µM 5-FU ilacı verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

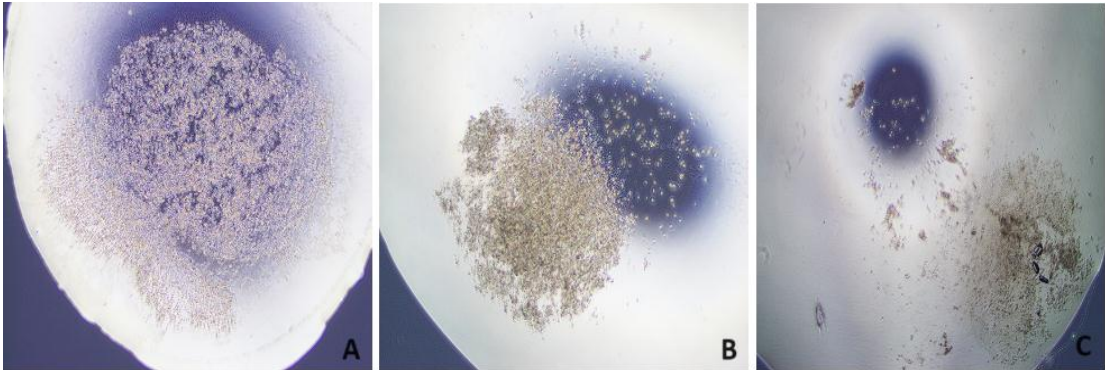


**Şekil 3.38.** 100 µM CBN + 1 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 100 µM CBN + 1 µM 5-FU 24. Saat B: MDA-MB-453 100 µM CBN + 1 µM 5-FU 48. Saat C: MDA-MB-453 100 µM CBN + 1 µM 5-FU 72. Saat

#### 4.1.4.8. 200 µM CBN + 2 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 200 µM CBN bileşiği ve 2 µM 5-FU ilacı verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

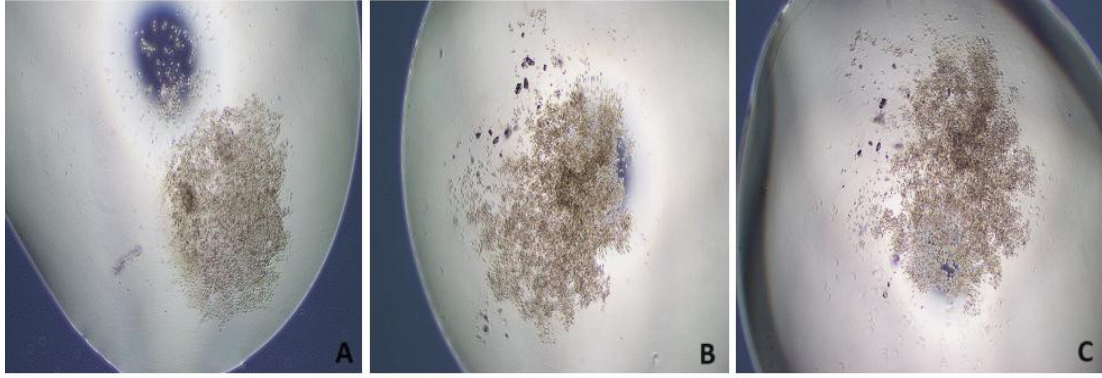


**Şekil 3.39.** 200 µM CBN + 2 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 200 µM CBN + 2 µM 5-FU 24. Saat B: MDA-MB-453 200 µM CBN + 2 µM 5-FU 48. Saat C: MDA-MB-453 200 µM CBN + 2 µM 5-FU 72. Saat

#### 4.1.4.9. 300 µM CBN + 5 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 300 µM CBN bileşiği ve 5 µM 5-FU ilacı verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.



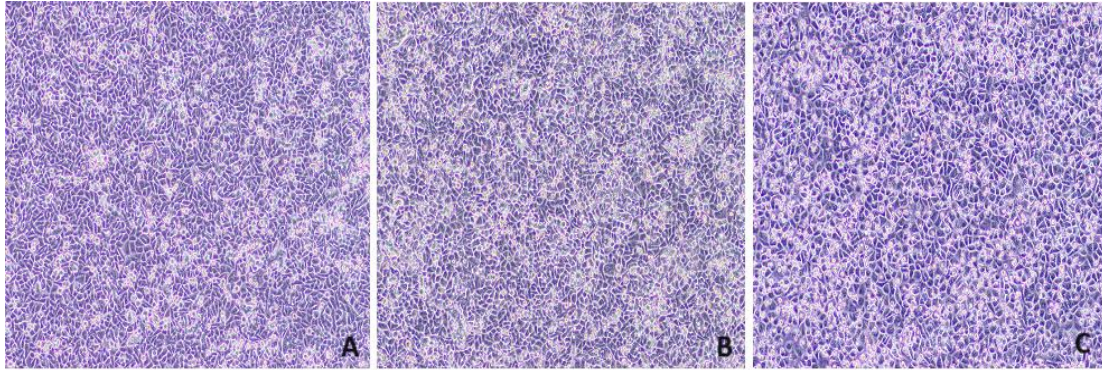
**Şekil 3.40.** 300 µM CBN + 5 µM 5-FU verilmiş MDA-MB-453 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: MDA-MB-453 300 µM CBN + 5 µM 5-FU 24. Saat B: MDA-MB-453 300 µM CBN + 5 µM 5-FU 48. Saat C: MDA-MB-453 300 µM CBN + 5 µM 5-FU 72. Saat

#### 4.1.5. İki Boyutlu HeLa Hücre Hattı

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı, 1 hafta boyunca 10x mikroskop altında incelendi. 1 hafta sonunda HeLa hücreleri flask tabanının %80'ini hücreler ile kapladığı belirlendikten sonra tripsin-EDTA kullanılarak hücrelerin tabandan kaldırıp 12'li kuyucuklara ekim yapıldı.

12'li kuyucuklara ekim yapıp tabanın %80'i kaplandıktan sonra (tablo 3.2) maddeler belirlenen dozlarda 1mL besiyeri içine hesaplanarak hücrelere verildi. Daha sonra 24, 48 ve 72. Saat aralıklarla hücrelerin yapısı incelenmek için fotoğrafları çekildi.

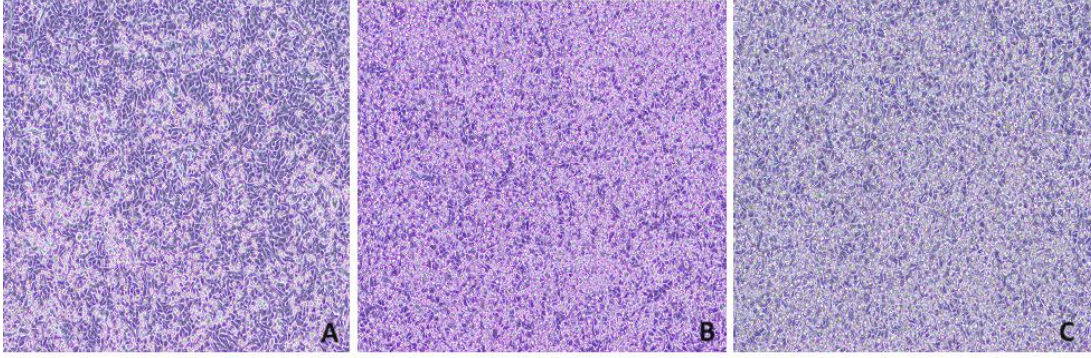


**Şekil 3.41.** İki boyutlu olarak geliştirilmiş HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa kontrol 24. Saat B: HeLa kontrol 48. Saat C: HeLa kontrol 72. Saat

##### 4.1.5.1. 10 µM CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

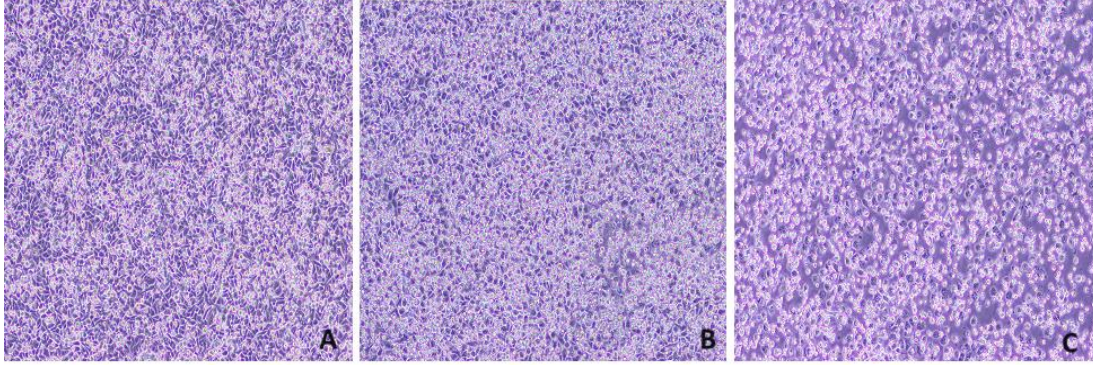


**Şekil 3.42.** 10 µM CBN verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 10 µM 24. Saat B: HeLa 10 µM 48. Saat C: HeLa 10 µM 72. Saat

#### 4.1.5.2. 50 µM CBN Sonuçları

HeLa rahim kanseri hücre hattına 50 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

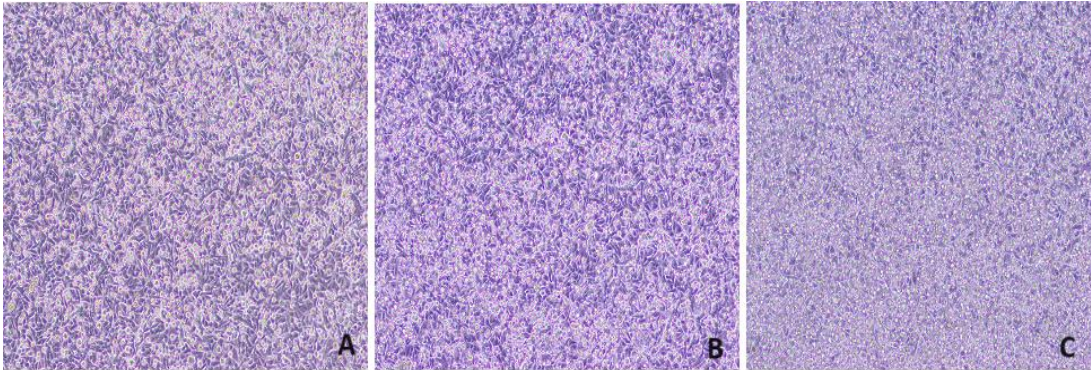


**Şekil 3.43.** 50 µM CBN verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 50 µM 24. Saat B: HeLa 50 µM 48. Saat C: HeLa 50 µM 72. Saat

#### 4.1.5.3. 100 µM CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 100 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

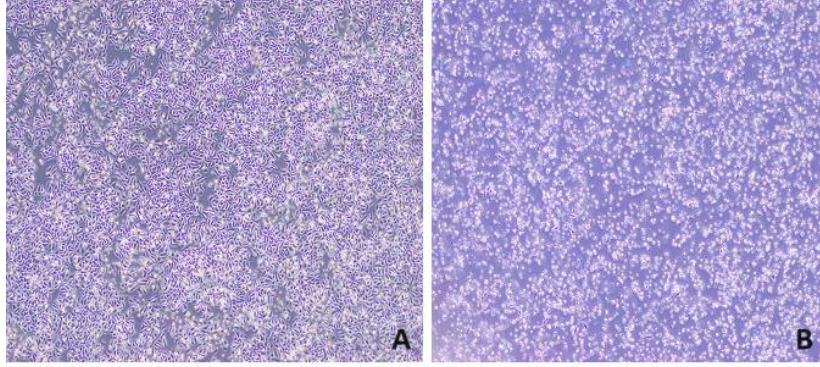


**Şekil 3.44.** 100 µM CBN verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 100 µM 24. Saat B: HeLa 100 µM 48. Saat C: HeLa 100 µM 72. Saat

#### 4.1.5.4. 1 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 1  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

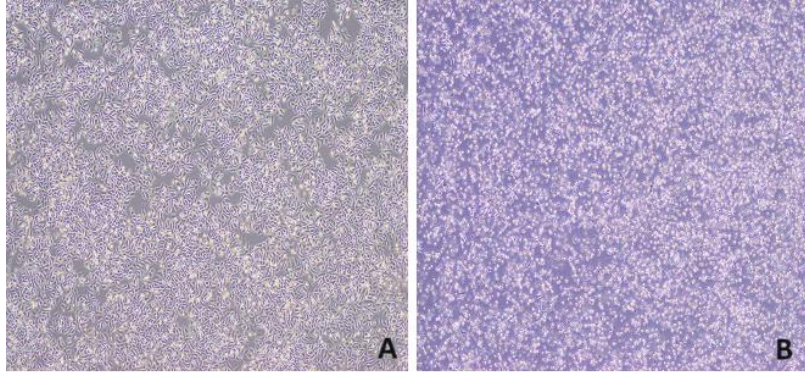


Şekil 3.45. 1  $\mu$ M 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 1  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 1  $\mu$ M 48. Saat

#### 4.1.5.5. 2,5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 2,5  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

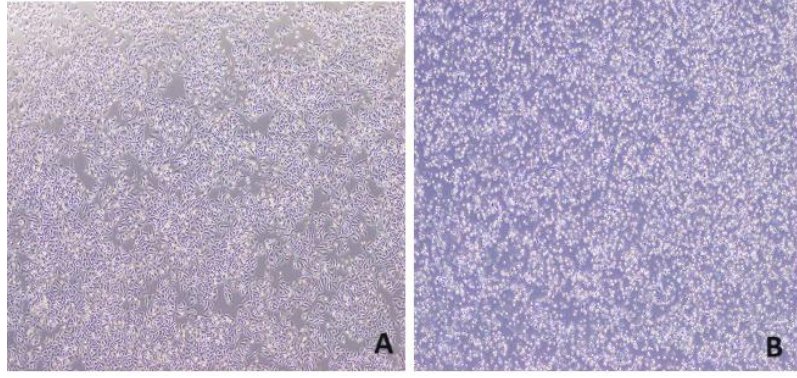


Şekil 3.46. 2,5  $\mu$ M 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 2,5  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 2,5  $\mu$ M 48. Saat

#### 4.1.5.6. 5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 5  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

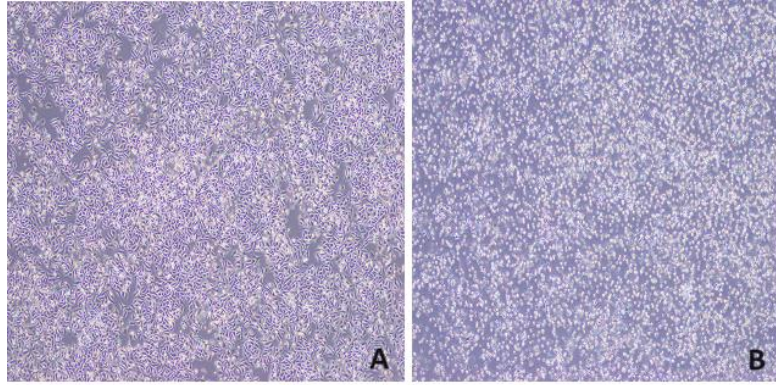


**Şekil 3.47.** 5  $\mu$ M 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 5  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 5  $\mu$ M 48. Saat

#### **4.1.5.7.10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları**

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

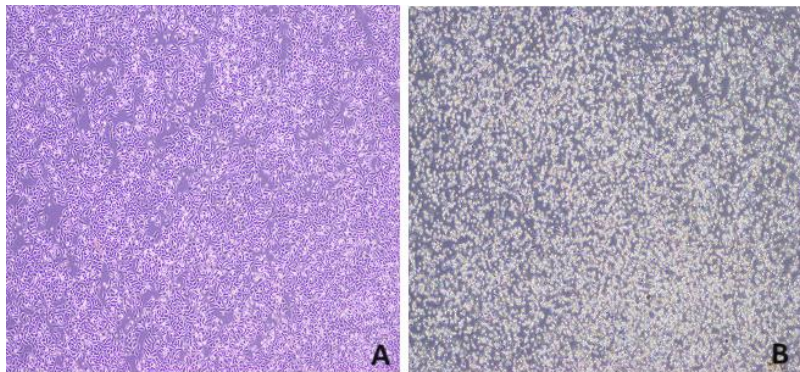


**Şekil 3.48.** 10  $\mu$ M 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre Hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 10  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 10  $\mu$ M 48. Saat

#### **4.1.5.8. 50 $\mu$ M 5-FU Sonuçları**

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 50  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

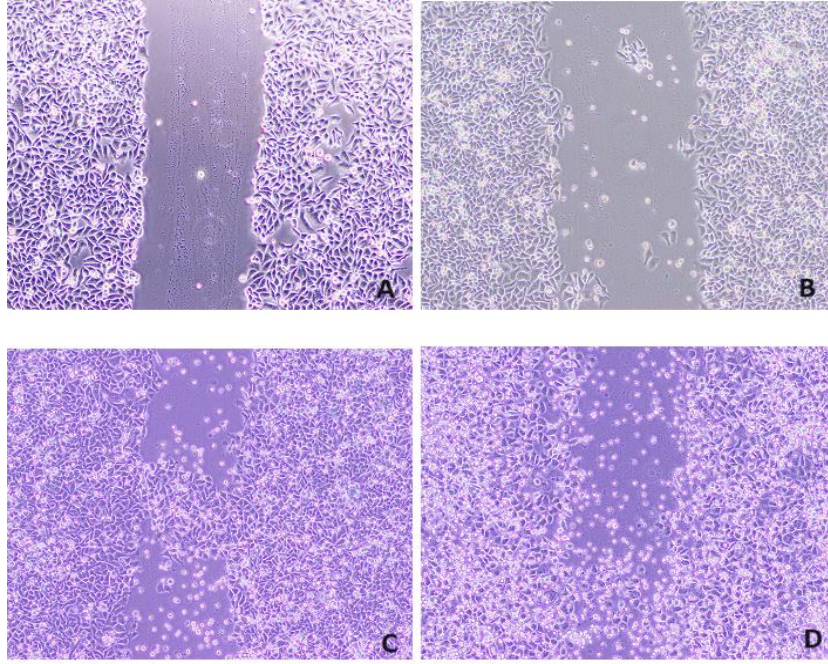


**Şekil 3.49.** 50 µM 5-FU verilmiş İki Boyutlu HeLa hücre Hattı (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 50 µM 24. Saat B: HeLa 50 µM 48. Saat

#### 4.1.6. HeLa Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları

Çalışmamızda HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı 12'li kuyucuklara ekim yapıp tabanın %80'i hücreler kaplandıktan sonra (tablo 3.2) maddeler belirlenen dozlarda 1mL besiyeri içine hesaplanarak hücrelere verilmiştir. Daha sonra 3.2.1.5.'de anlatıldığı şekilde yara açıldı. Yaranın açıldığı an 0. Saat olarak belirlendi. İlaç uygulanan hücre hattına yara açıklığı 24, 48 ve 72. Saatlerde değerlendirildi.

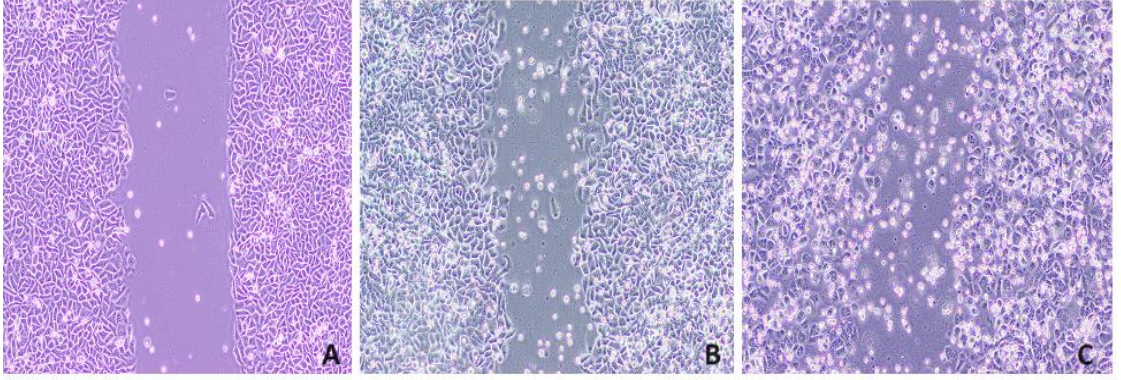


**Şekil 3.50.** Kontrol HeLa Migrasyon Deney Sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa kontrol 0. Saat B: HeLa kontrol 24. Saat C: HeLa kontrol 48. Saat D: HeLa kontrol 72. Saat

#### 4.1.6.1. 10 µM CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

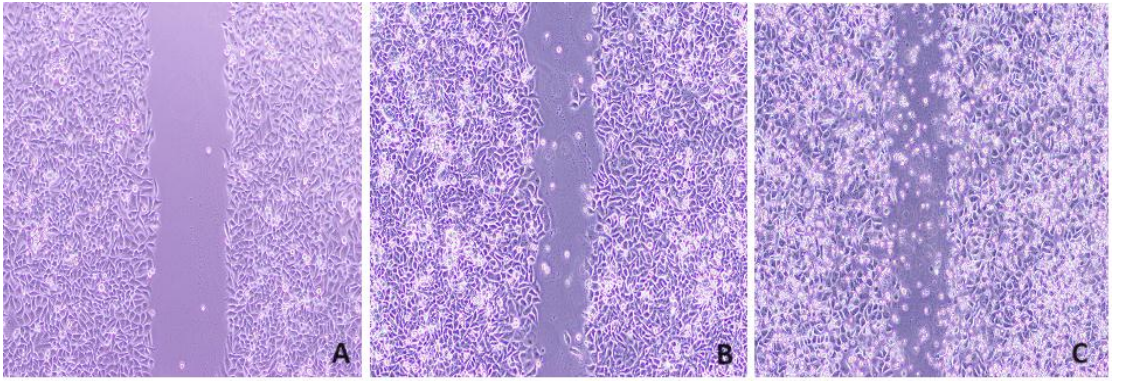


**Şekil 3.51.** 10  $\mu\text{M}$  CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu\text{M}$  24. Saat B: HeLa 10  $\mu\text{M}$  48. Saat C: HeLa 10  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.6.2. 25 $\mu\text{M}$ CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 25  $\mu\text{M}$  CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

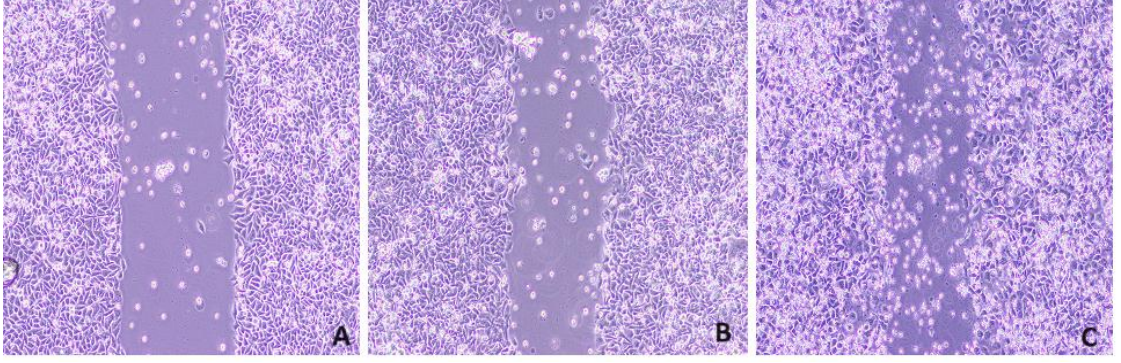


**Şekil 3.52.** 25  $\mu\text{M}$  CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 25  $\mu\text{M}$  24. Saat B: HeLa 25  $\mu\text{M}$  48. Saat C: HeLa 25  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.6.3. 50 $\mu\text{M}$ CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 50  $\mu\text{M}$  CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

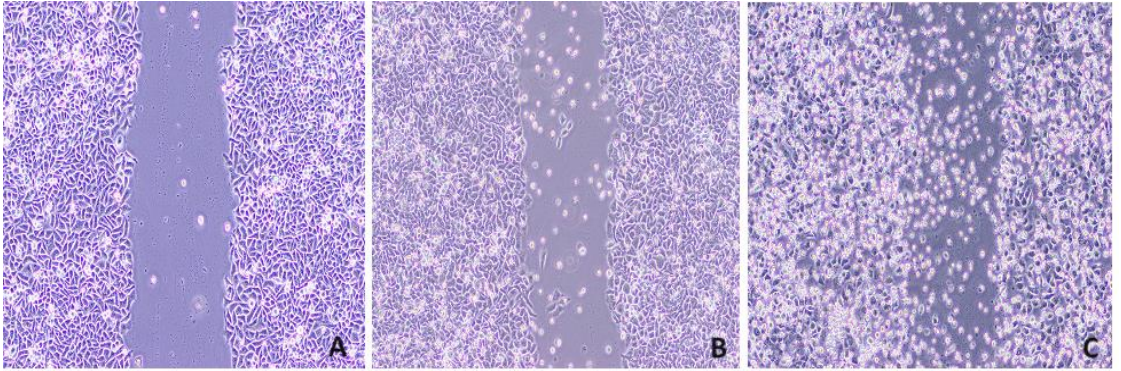


**Şekil 3.53.** 50  $\mu\text{M}$  CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 50  $\mu\text{M}$  24. Saat B: HeLa 50  $\mu\text{M}$  48. Saat C: HeLa 50  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.6.4. 100 $\mu\text{M}$ CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 100  $\mu\text{M}$  CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

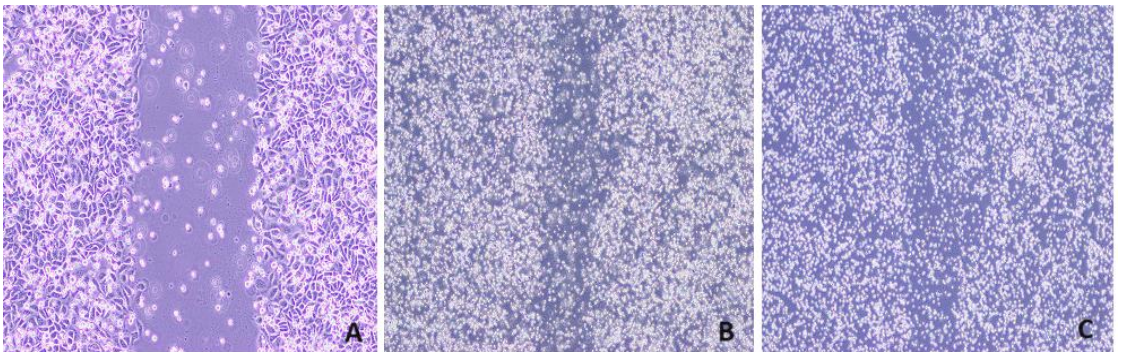


**Şekil 3.54.** 100  $\mu\text{M}$  CBN verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 100  $\mu\text{M}$  24. Saat B: HeLa 100  $\mu\text{M}$  48. Saat C: HeLa 100  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.6.5. 1 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 1  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

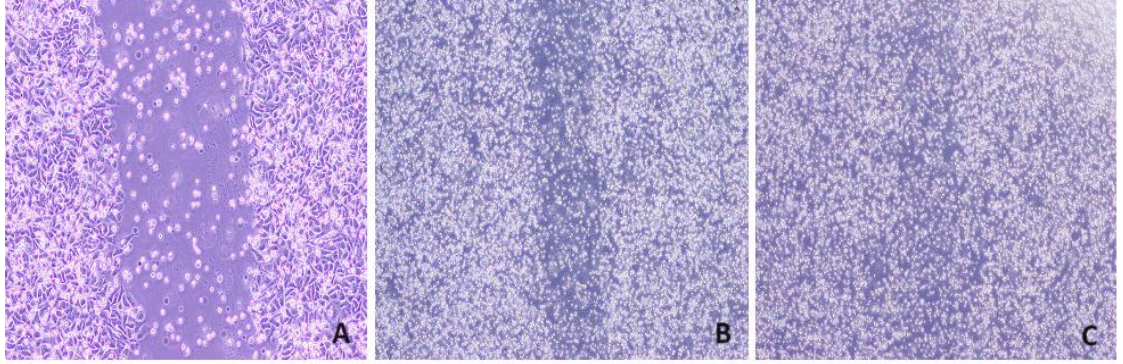


**Şekil 3.55.** 1  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 1  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 1  $\mu$ M 48. Saat C: HeLa 1  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.6.6. 2,5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 2,5  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

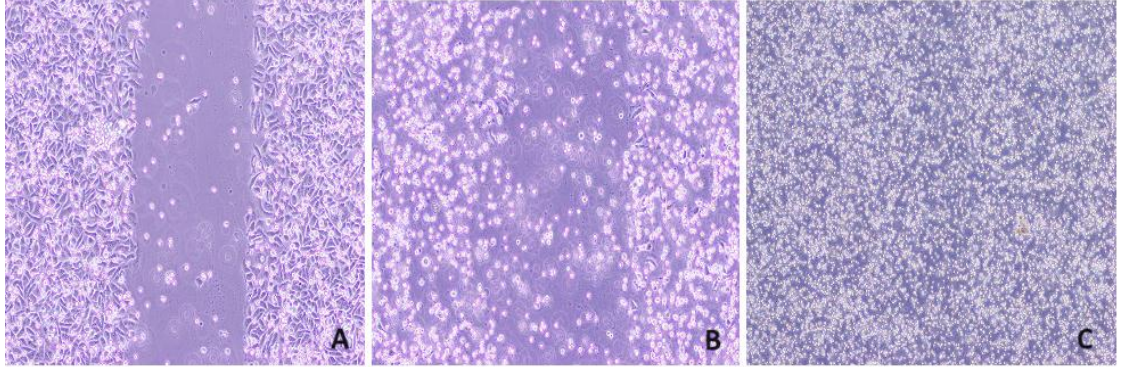


Şekil 3.56. 2,5  $\mu$ M 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 2,5  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 2,5  $\mu$ M 48. Saat C: HeLa 2,5  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.6.7. 5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 5  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

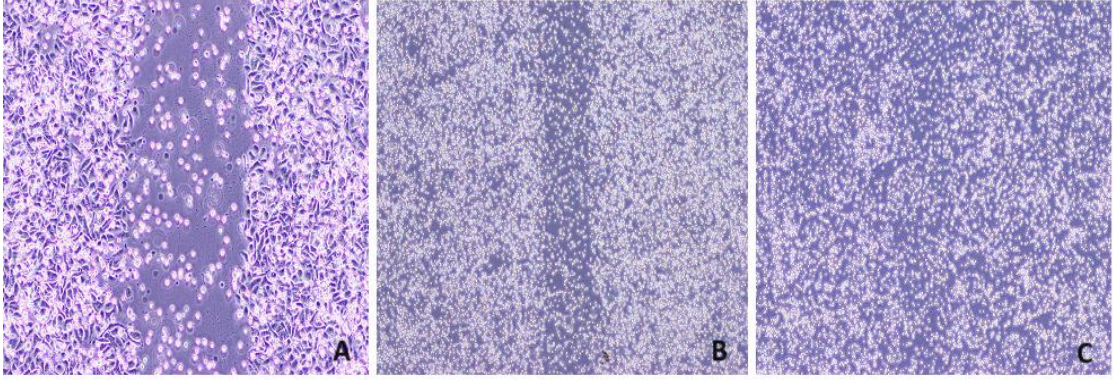


Şekil 3.57. 5  $\mu$ M 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 5  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 5  $\mu$ M 48. Saat C: HeLa 5  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.6.8. 10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

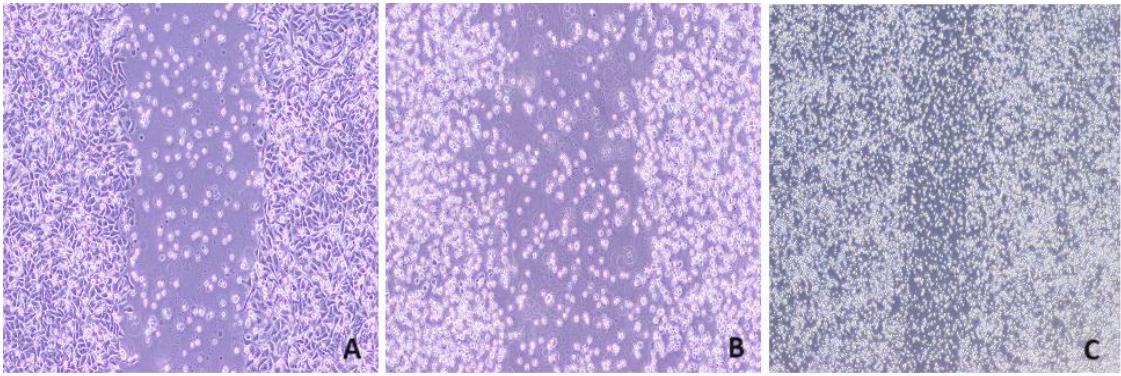


**Şekil 3.58.** 10  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu\text{M}$  24. Saat B: HeLa 10  $\mu\text{M}$  48. Saat C: HeLa 10  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.6.9. 50 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 50  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

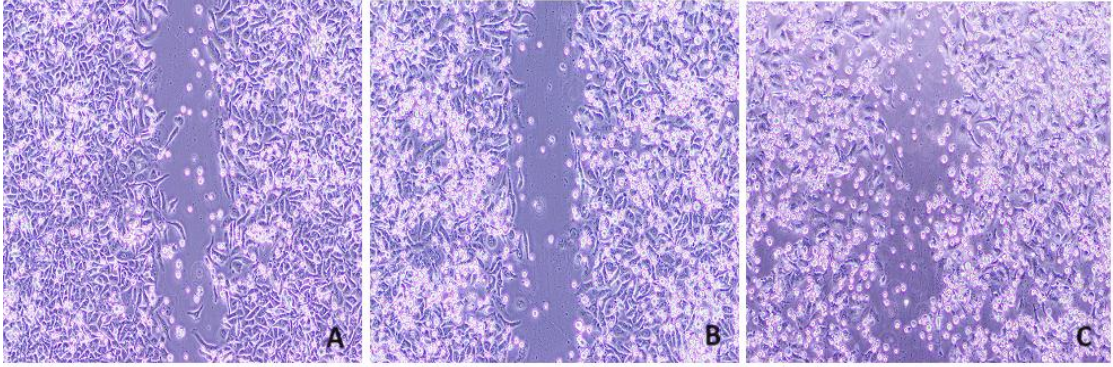


**Şekil 3.59.** 50  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 50  $\mu\text{M}$  24. Saat B: HeLa 50  $\mu\text{M}$  48. Saat C: HeLa 50  $\mu\text{M}$  72. Saat

#### 4.1.6.10. 10 $\mu\text{M}$ CBN + 1 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10  $\mu\text{M}$  CBN + 1  $\mu\text{M}$  5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

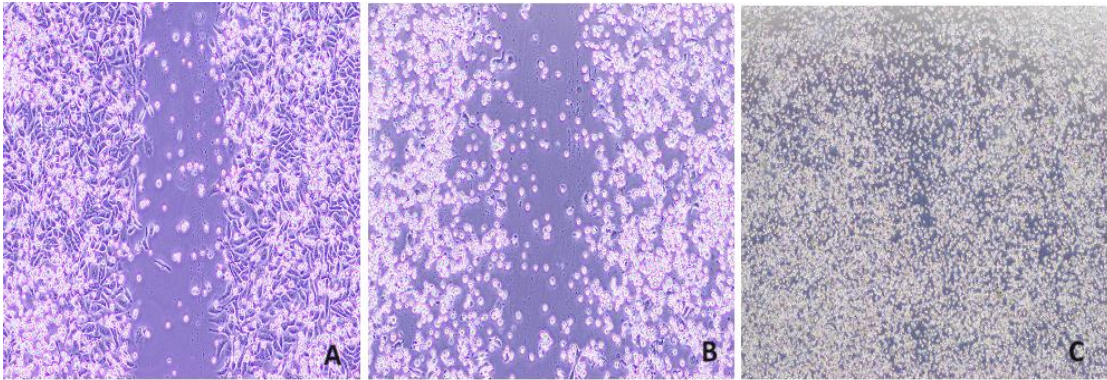


**Şekil 3.60.** 10  $\mu\text{M}$  CBN + 1  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 1  $\mu\text{M}$  5-FU 24. Saat B: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 1  $\mu\text{M}$  5-FU 48. Saat C: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 1  $\mu\text{M}$  5-FU 72. Saat

#### 4.1.6.11. 10 $\mu\text{M}$ CBN + 5 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

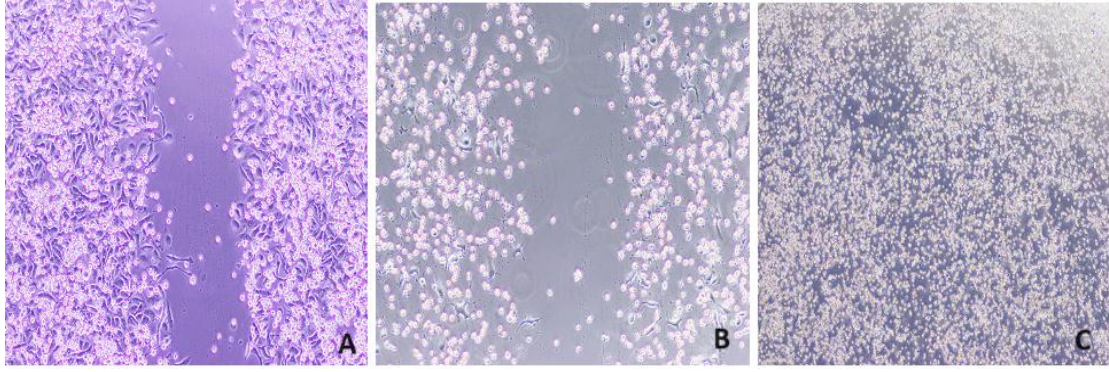


**Şekil 3.61.** 10  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU 24. Saat B: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU 48. Saat C: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU 72. Saat

#### 4.1.6.12. 10 $\mu\text{M}$ CBN + 10 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10  $\mu\text{M}$  CBN + 10  $\mu\text{M}$  5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.



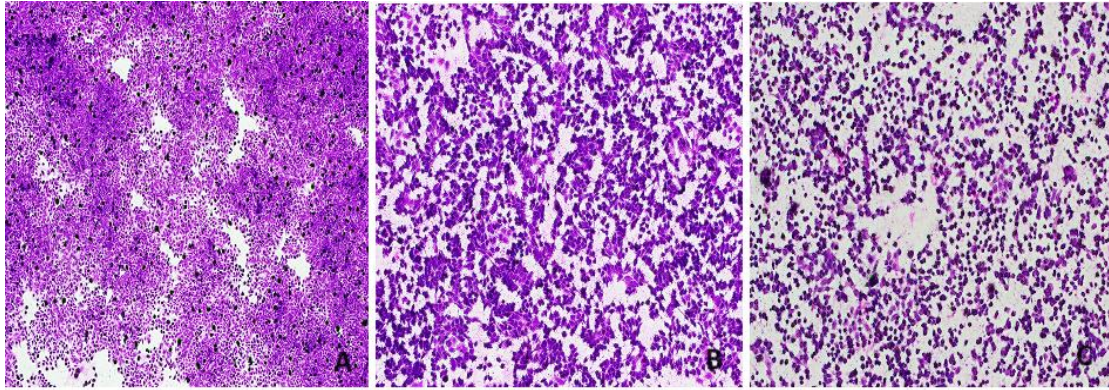
**Şekil 3.62.** 10 µM CBN + 10 µM 5-FU verilmiş HeLa Migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10 µM CBN + 10 µM 5-FU 24. Saat B: HeLa 10 µM CBN + 10 µM 5-FU 48. Saat C: HeLa 10 µM CBN + 10 µM 5-FU 72. Saat

#### 4.1.7. HeLa İnvazyon Deney Sonuçları

Kanser hücrelerinin metastaz yeteneğinin araştırılması için invazyon yöntemi kullanılmaktadır. Çalışmamızda, HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına uygulanan maddelerin invazyon yeteneğine etkisi boyama deneyi yapılarak görüntülendi.

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı 12'li kuyucuklara ekim yapıp tabanının %80'i kaplandıktan sonra (tablo 3.2) maddeler belirlenen dozlarda 1mL besiyeri içine hesaplanarak hücrelere verildi. Daha sonra 3.2.1.7.'de anlatıldığı şekilde boyama yapıldı. Boyama her 24 saatte bir yapılarak fotoğrafları çekildi.

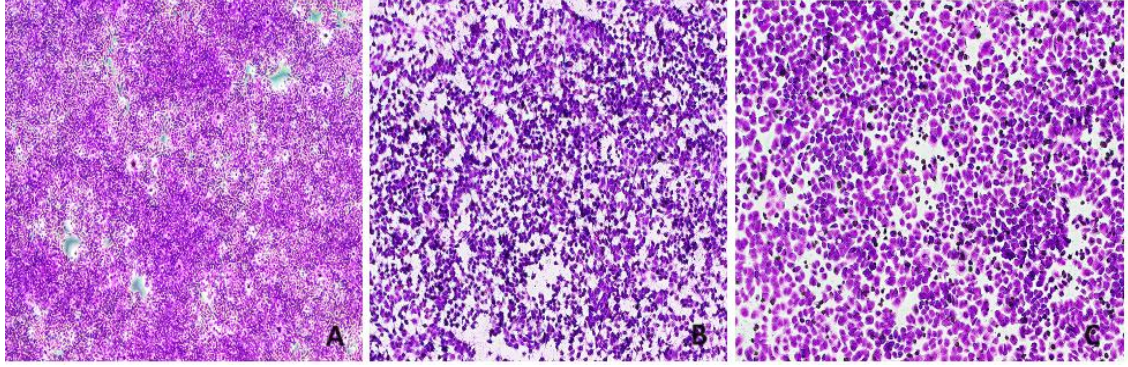


**Şekil 3.63.** Kontrol HeLa Hücre Hattı İnvazyon Deneyi Sonucu (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa kontrol 24. Saat B: HeLa kontrol 48. Saat C: HeLa kontrol 72. Saat

##### 4.1.7.1. 10 µM CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

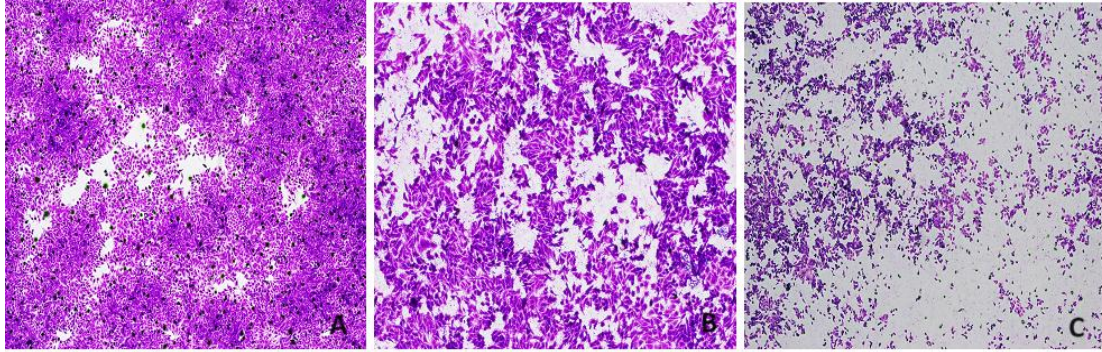


**Şekil 3.64.** 10 µM CBN verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 10 µM 24. Saat B: HeLa 10 µM 48. Saat C: HeLa 10 µM 72. Saat

#### 4.1.7.2. 25 µM CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 25 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

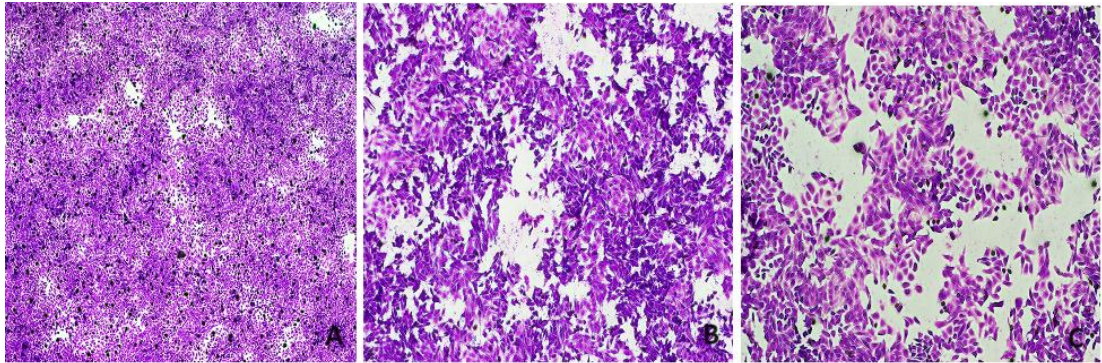


**Şekil 3.65.** 25 µM CBN verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 25 µM 24. Saat B: HeLa 25 µM 48. Saat C: HeLa 25 µM 72. Saat

#### 4.1.7.3. 50 µM CBN Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 50 µM CBN maddesi verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

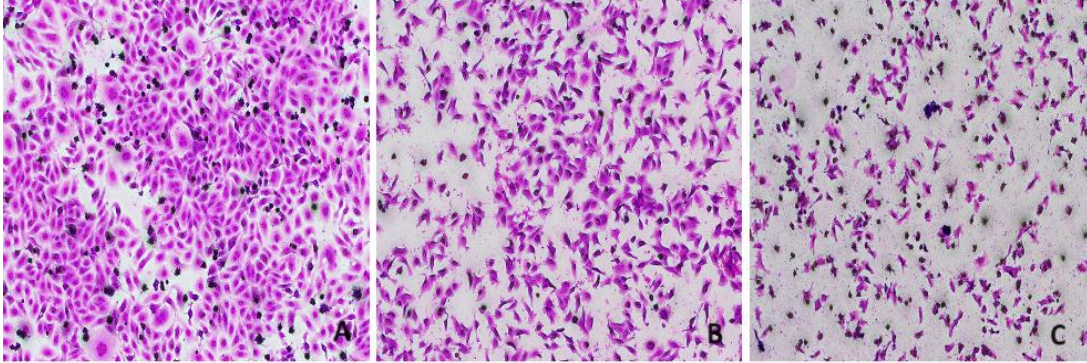


**Şekil 3.66.** 50 µM CBN verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 50 µM 24. Saat B: HeLa 50 µM 48. Saat C: HeLa 50 µM 72. Saat

#### 4.1.7.4. 1 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 1  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

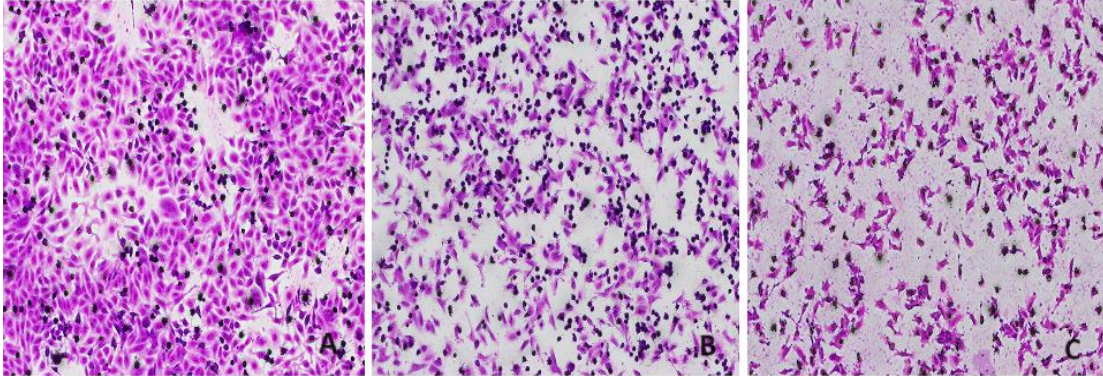


Şekil 3.67. 1  $\mu$ M 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deneş Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 1  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 1  $\mu$ M 48. Saat C: HeLa 1  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.7.5. 5 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 5  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

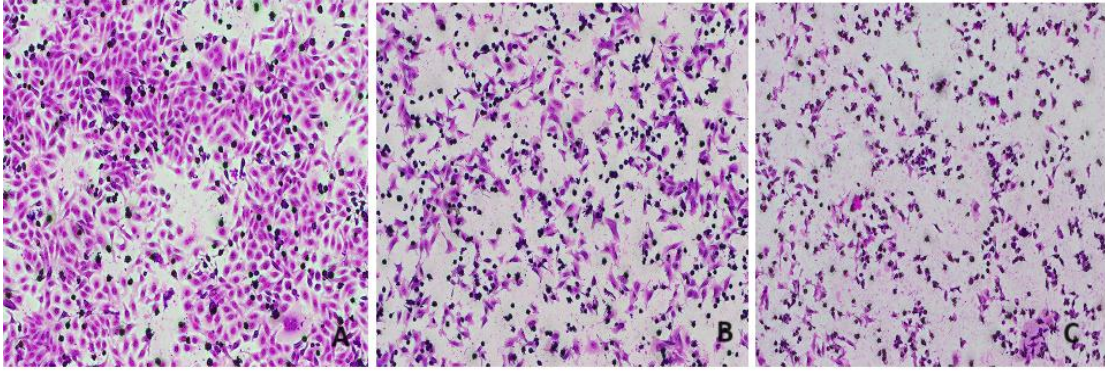


Şekil 3.68. 5  $\mu$ M 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deneş Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 5  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 5  $\mu$ M 48. Saat C: HeLa 5  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.7.6. 10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10  $\mu$ M 5-FU ilacı verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

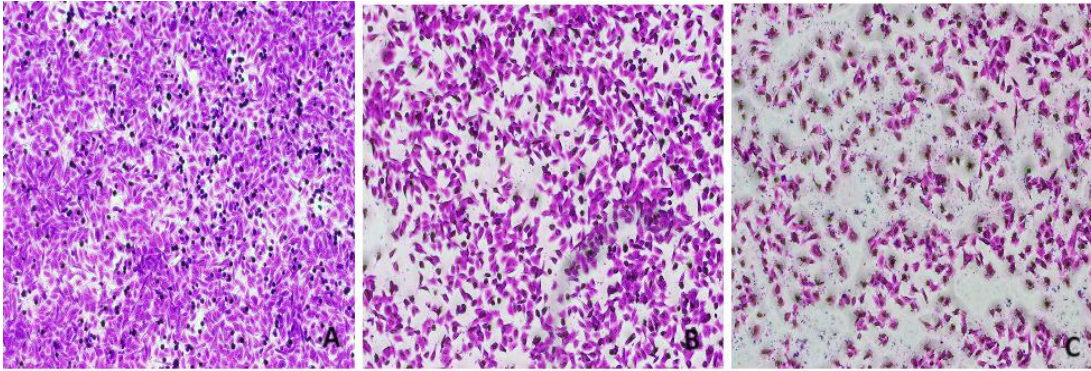


**Şekil 3.69.** 10 µM 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonuçları (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa, 10 µM 24. Saat B: HeLa 10 µM 48. Saat C: HeLa 10 µM 72. Saat

#### 4.1.7.7. 10 µM CBN + 1 µM 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10 µM CBN + 1 µM 5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

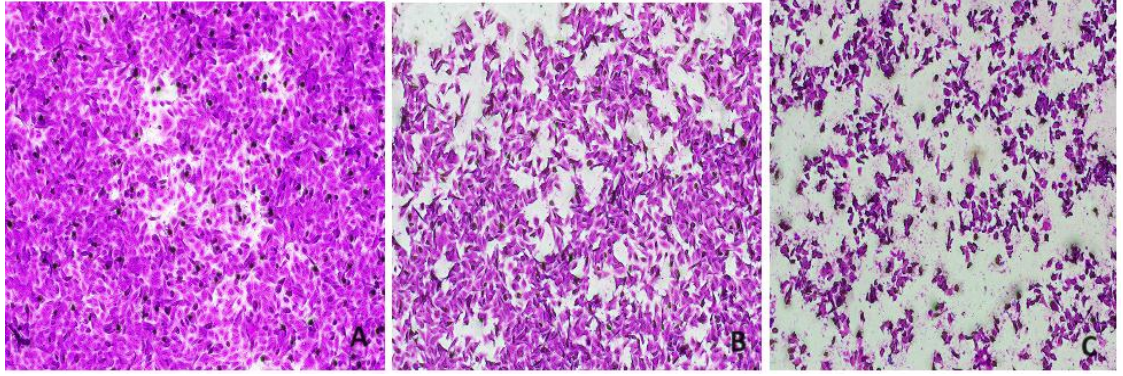


**Şekil 3.70.** 10 µM CBN + 1 µM 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonucu (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10 µM CBN + 1 µM 5-FU 24. Saat B: HeLa 10 µM CBN + 1 µM 5-FU 48. Saat C: HeLa 10 µM CBN + 1 µM 5-FU 72. Saat

#### 4.1.7.8. 10 µM CBN + 5 µM 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10 µM CBN + 5 µM 5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

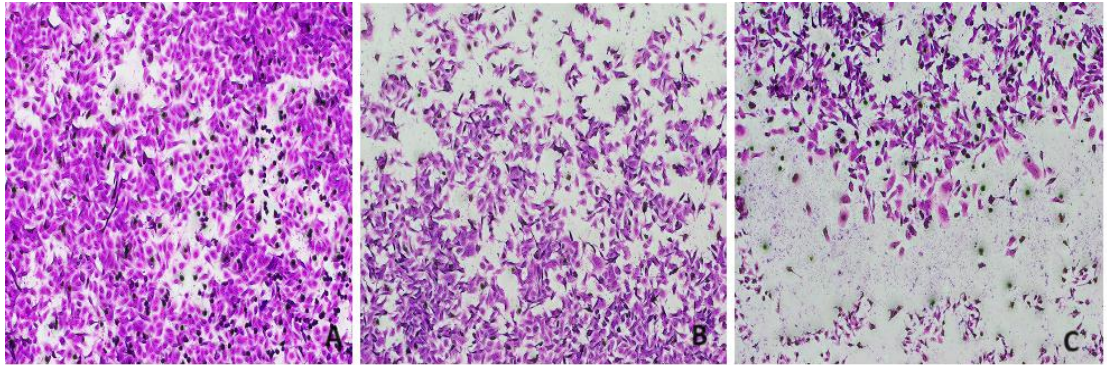


**Şekil 3.71.** 10  $\mu$ M CBN + 5  $\mu$ M 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonucu (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu$ M CBN + 5  $\mu$ M 5-FU 24. Saat B: HeLa 10  $\mu$ M CBN + 5  $\mu$ M 5-FU 48. Saat C: HeLa 10  $\mu$ M CBN + 5  $\mu$ M 5-FU 72. Saat

#### 4.1.7.9. 10 $\mu$ M CBN + 10 $\mu$ M 5-FU Sonuçları

HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU verildikten sonra 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.



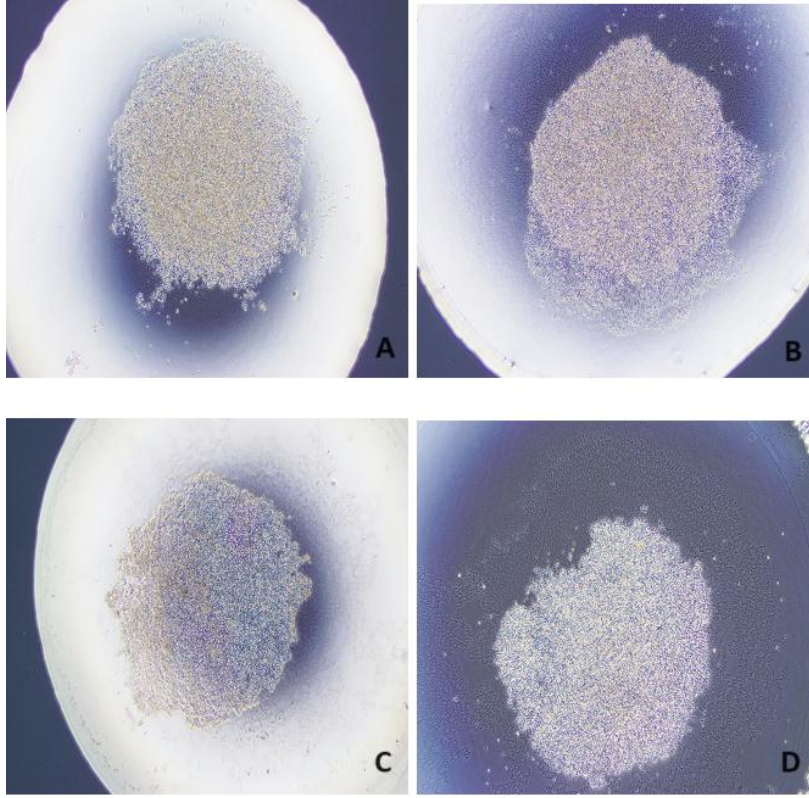
**Şekil 3.72.** 10  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU verilmiş HeLa İnvazyon Deney Sonucu (4x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU 24. Saat B: HeLa 10  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU 48. Saat C: HeLa 10  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU 72. Saat

#### 4.1.8. HeLa 3 Boyutlu Deney Sonuçları

Hücrelerin 3B olarak geliştirilmesinde asılı damlama yöntemi kullanılmıştır. Yaklaşık 10.000 hücre/mL steril bir petri kutusunun kapağına şekilde görüldüğü gibi 10 mL kadar hücre bırakıldı. Su kaybının olmaması için petri kutusunun alt kısmına steril PBS eklendi. Petri kutuları 37 °C'de, %5 CO<sub>2</sub> inkübatöründe 48 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonrasında 3B olarak geliştirilmiş hücelere belirlenen konsantrasyonlarda (tablo 3.2) maddeler verilmiş ve yeniden inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda CBN bileşiği ve 5-FU ilacının ayrı ayrı ve kombinasyon halinde hücrelerin küresel yapısı üzerindeki etkileri 24, 48 ve 72 saat fotoğrafları çekilerek değerlendirildi.

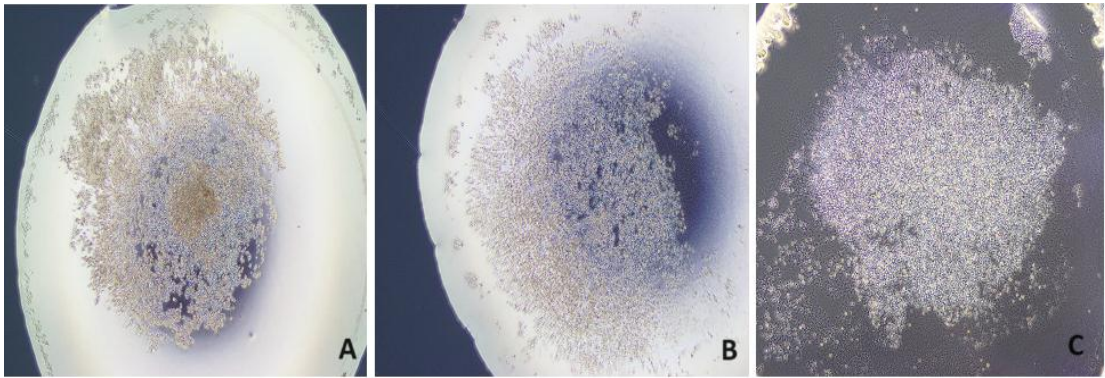


**Şekil 3.73.** Kontrol HeLa Hücre Hattı 3Boyutlu Deneyi Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa kontrol 0. Saat B: HeLa kontrol 24. Saat C: HeLa kontrol 48. Saat D: HeLa kontrol 72. Saat

#### 4.1.8.1. 10 $\mu$ M CBN Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 10  $\mu$ M CBN maddesi verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

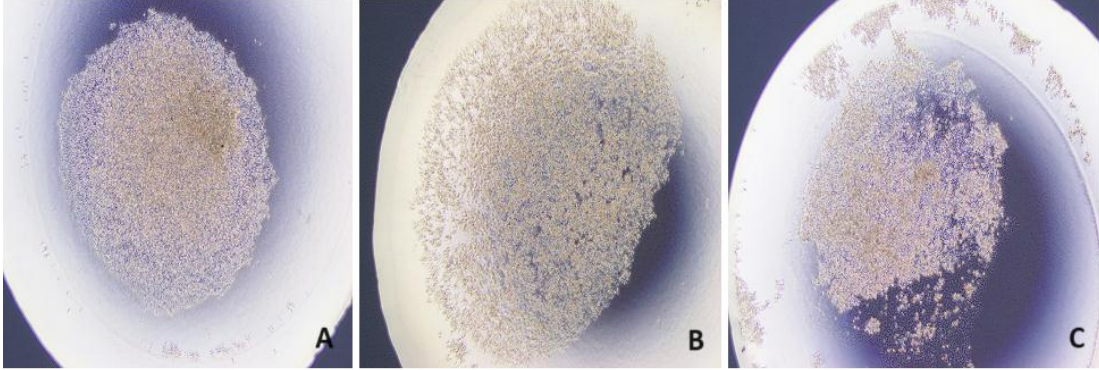


**Şekil 3.74.** 10  $\mu$ M CBN verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu$ M 24. Saat B: HeLa 10  $\mu$ M 48. Saat C: HeLa 10  $\mu$ M 72. Saat

#### 4.1.8.2. 25 µM CBN Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücrelere 25 µM CBN maddesi verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

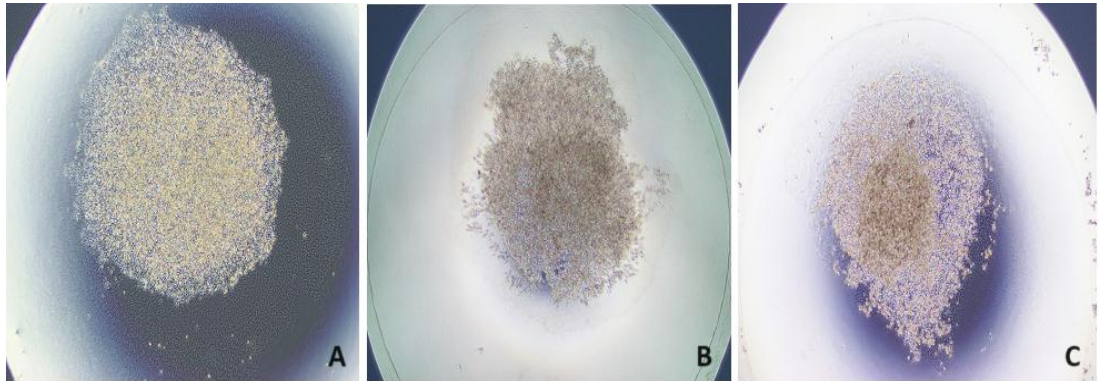


Şekil 3.75. 25 µM CBN verilmiş HeLa 3B Deneysel Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 25 µM 24. Saat B: HeLa 25 µM 48. Saat C: HeLa 25 µM 72. Saat

#### 4.1.8.3. 50 µM CBN Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücrelere 50 µM CBN maddesi verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

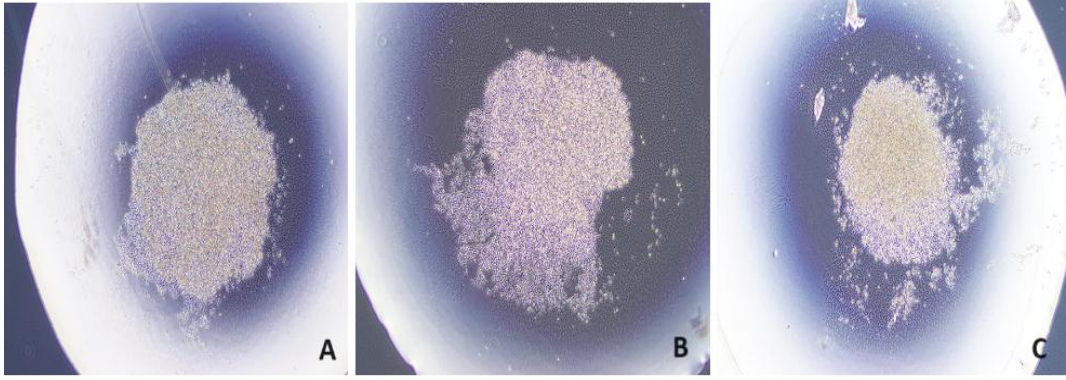


Şekil 3.76. 50 µM CBN verilmiş HeLa 3B Deneysel Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 50 µM 24. Saat B: HeLa 50 µM 48. Saat C: HeLa 50 µM 72. Saat

#### 4.1.8.4. 100 µM CBN Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücrelere 100 µM CBN maddesi verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

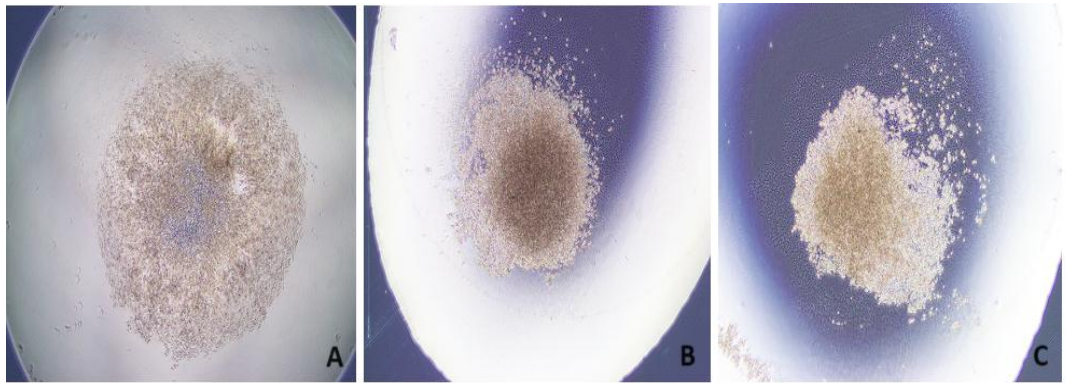


Şekil 3.77. 100 µM CBN verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 100 µM 24. Saat B: HeLa 100 µM 48. Saat C: HeLa 100 µM 72. Saat

#### 4.1.8.5. 2,5 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 2,5 µM 5-FU ilacı verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

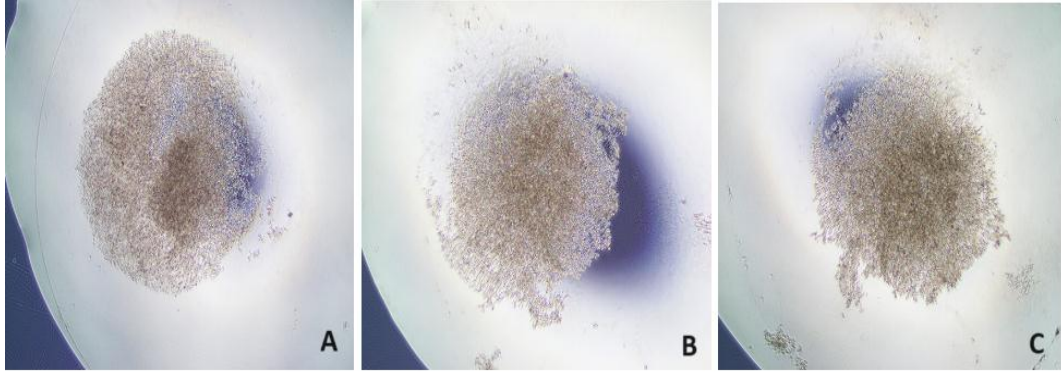


Şekil 3.78. 2,5 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 2,5 µM 24. Saat B: HeLa 2,5 µM 48. Saat C: HeLa 2,5 µM 72. Saat

#### 4.1.8.6. 5 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 5 µM 5-FU ilacı verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

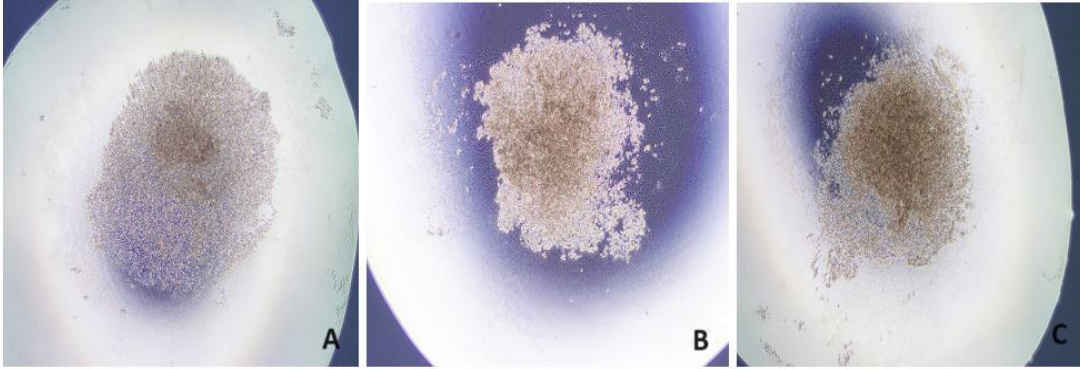


**Şekil 3.79.** 5 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 5 µM 24. Saat B: HeLa 5 µM 48. Saat C: HeLa 5 µM 72. Saat

#### 4.1.8.7. 10 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 10 µM 5-FU ilacı verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

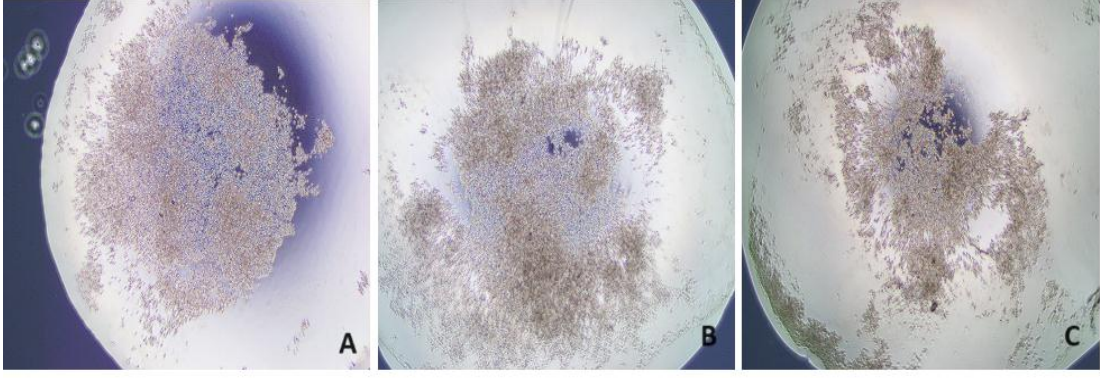


**Şekil 3.80.** 10 µM 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10 µM 24. Saat B: HeLa 10 µM 48. Saat C: HeLa 10 µM 72. Saat

#### 4.1.8.8. 10 µM CBN + 2,5 µM 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücelere 10 µM CBN + 2,5 µM 5-FU verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

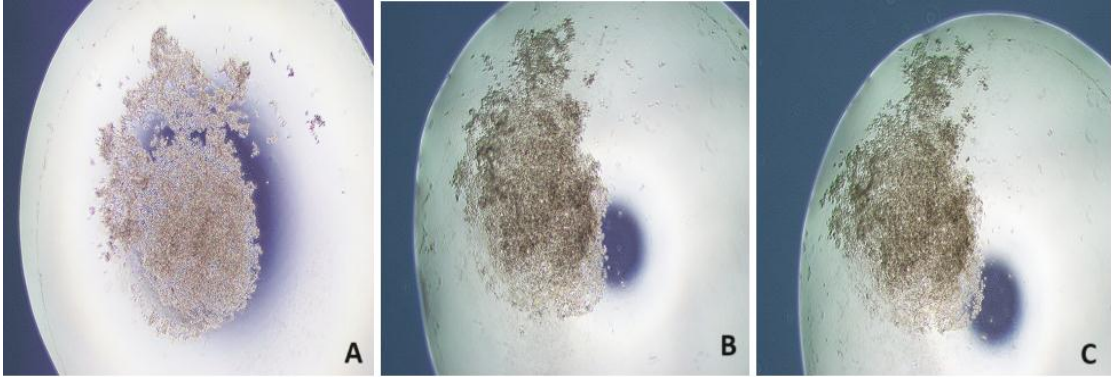


**Şekil 3.81.** 10  $\mu\text{M}$  CBN + 2,5  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 2,5  $\mu\text{M}$  5-FU 24. Saat B: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 2,5  $\mu\text{M}$  5-FU 48. Saat C: HeLa 10  $\mu\text{M}$  CBN + 2,5  $\mu\text{M}$  5-FU 72. Saat

#### 4.1.8.9. 20 $\mu\text{M}$ CBN + 5 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücrelere 20  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.

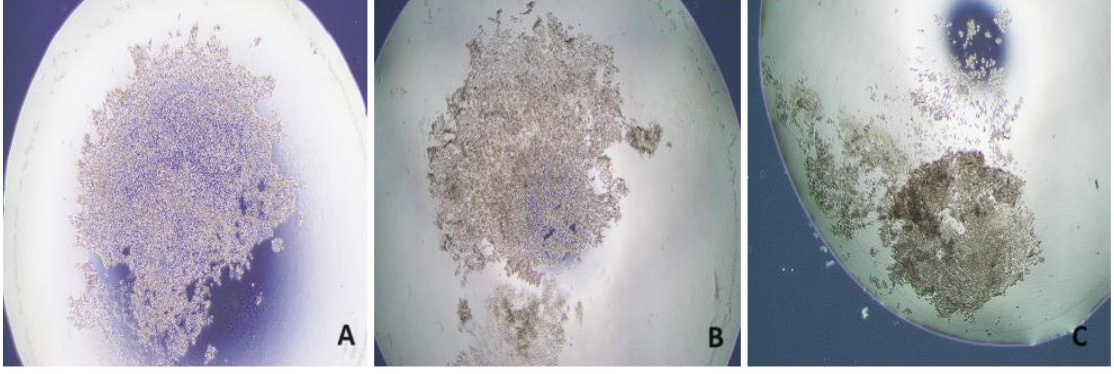


**Şekil 3.82.** 20  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 20  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU 24. Saat B: HeLa 20  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU 48. Saat C: HeLa 20  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5-FU 72. Saat

#### 4.1.8.10. 30 $\mu\text{M}$ CBN + 10 $\mu\text{M}$ 5-FU Sonuçları

Petri kutusu kapağına asılı damlama yöntemi ile HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı ekimi yapıldı ve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücrelere 30  $\mu\text{M}$  CBN + 10  $\mu\text{M}$  5-FU verilerek 24, 48 ve 72. Saat 10x mikroskop lensi altında görüntüleri çekildi.



**Şekil 3.83.** 30  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU verilmiş HeLa 3B Deney Sonucu (10x mikroskop görüntüsü).

A: HeLa 30  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU 24. Saat B: HeLa 30  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU 48. Saat C: HeLa 30  $\mu$ M CBN + 10  $\mu$ M 5-FU 72. Saat

#### 4.1.9. Moleküler Kenetlenme ve Moleküler Dinamik Simülasyon Çalışmaları

Moleküler kenetleme çalışmaları, son yıllarda çeşitli hastalıklara sebep olan mekanizmaların belirlenmesi ve buna bağlı olarak ilaç tasarımı araştırmalarında önemli bir rol oynamaktadır.

Moleküler kenetleme çalışmaları, bir molekül veya moleküler kompleksin yapısal özelliklerini ve etkileşimlerini incelemek için kullanılan bir dizi hesaplama ve modelleme tekniğini ifade eder. Bu etkileşimlerin anlaşılması, ilaç tasarımı sürecinde potansiyel inhibitörlerin belirlenmesine ve tasarlanmasına yardımcı olur. Özellikle güçlü inhibitörlerin tasarımı, bir hastalığın temel nedenlerini hedefleyen etkili tedavilerin geliştirilmesine yardımcı olmaktadır. Çalışmalar, biyolojik sistemlerde ilaç etkileşimlerini, protein-protein etkileşimlerini, protein-ligand etkileşimlerini veya kimyasal reaksiyon mekanizmalarını incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır ve bu çalışmalar hedef molekülün yapısını ve etkileşimlerini daha iyi anlamamıza, biyolojik süreçlerin temel mekanizmalarını keşfetmemize, ilaç tasarımı sürecinde yeni bileşiklerin geliştirilmesine rehberlik etmemize yardımcı olmaktadır. Bu yöntemler, modern ilaç keşfi ve geliştirilmesinde temel rol oynamaktadır.

Çalışmamızda kenevir bitkisinden elde edilen CBN bileşiğinin ve kanser tedavisinde kullanılan 5-FU ilacın kanser gelişiminde rol oynayan apoptotik proteinler ile etkileşimleri değerlendirilmiştir. Proteinler ve ligandlar arasındaki bağlanma enerjileri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Protein ve ligandlar arasındaki bağlanma enerjileri (kcal/mol).

Protein ( <i>H. sapiens</i> )	Ligand	Seamdock program (kcal/mol).	Swisdock program (kcal/mol).	Binding Energy Autodock Vina(kcal/mol).
AKT1 (6BUU)	CBN	-6.8	-7.22	-8.3
	5-FU	-5.1	-6.12	-4.9
BAG1 (3FZM) (3FZH)	CBN	-9.3	-7.22	-7.6
	5-FU	-5.4	-5.90	-5.4
BAX (3PK1)	CBN	-7	-6.36	-7.3
	5-FU	-4.9	-6.31	-4.0
BCL2 (8HTS)	CBN	-7	-7.36	-6.9
	5-FU	-4.6	-6.20	-3.9
BCL2A1 (6MBB)	CBN	-7.1	-6.57	-7.4
	5-FU	-4.5	-6.05	-3.9
BCL2L1 (6DCO) (6DCO)	CBN	-8.5	-7.27	-9.1
	5-FU	-5.4	-6.26	-4.7
BCL2L10 (4B4S)	CBN	-7.2	-6.90	-7.6
	5-FU	-4.4	-5.83	-3.5
BIRC3 (2UVL)	CBN	-6.6	-	-6.4
	5-FU	-5	-	-4.5
BIRC5 (1XOX)	CBN	-8.6	-	-6.7
	5-FU	-4.9	-	-4.8
BIRC6 (3CEG)	CBN	-7.4	-6.80	-8.1
	5-FU	-5.2	-6.12	-5.1
BRAF (2Y4I) (5VR3)	CBN	-8.9	-	-9.3
	5-FU	-5.2	-5.80	-4.7
CD27 (1JJ9)	CBN	-9.2	-5.83	-7.2
	5-FU	-5.6	-5.54	-4.1
CD40LG (1ALY)	CBN	-6.5	-6.46	-6.8
	5-FU	-4.5	-5.56	-4.1
CFLAR (2N5R) (3HI3)	CBN	-50.7	-6.47	-
	5-FU	-24.1	-6.09	-
DAPK1 (5AUT)	CBN	-8.3	-6.23	-8.7
	5-FU	-4.6	-5.98	-4.3
FAS (3MX7)	CBN	-6.4	-6.74	-7.0
	5-FU	-4.2	-6.01	-3.6
HRK (7P0U)	CBN	-7.7	-7.27	-8.4
	5-FU	-4.5	-6.08	-5.3
IGF1R (5E1S)	CBN	-8	-7.76	-7.2
	5-FU	-4.6	-5.95	-4.0
IL10 (1M4R)	CBN	-7.3	-7.02	-7.5
	5-FU	-4.9	-5.79	-4.0
MCL1 (6QBC)	CBN	-7.3	-6.70	-
	5-FU	-5.1	-5.81	-
NAIP (2VM5)	CBN	-6.8	-	-7.6
	5-FU	-4.7	-	-4.4
NFKB1(7LFC)(7RG 5 swiss)	CBN	-6.5	-6.52	-7.7
	5-FU	-4.7	-6.11	-3.7
RIPK2 (6FU5) (6GGS)	CBN	-9.5	-6.79	-8.7
	5-FU	-5.6	-5.88	-5.4
TNF (3B93)	CBN	-7.4	-7.22	-7.7
	5-FU	-4.6	-5.76	-4.5
XIAP (1TFQ)	CBN	-6.9	-	-7.5
	5-FU	-4.2	-	-3.4

**Tablo 4.2.** Protein ve ligand arasındaki en yüksek bağlanma enerjisinin programlar arasında karşılaştırılması.

	<b>CBN</b>	<b>5-FU</b>
<b>Autodock Vina program</b> (kcal/ mol)	BRAF -9.3 kcal/mol	RIPK2–BAG1 -5.4 kcal/mol
<b>Seamdock program</b> (kcal/ mol)	CFLAR- 50.7 kcal/mol	CFLAR- 24.1 kcal/mol
<b>SwissDock program</b> (kcal/ mol)	IGF1R- 7.76 kcal/mol	BAX - 6.31kcal/mol

**Tablo 4.3.** Protein ve ligand arasındaki en düşük bağlanma enerjisinin programlar arasında karşılaştırılması.

	<b>CBN</b>	<b>5-FU</b>
<b>Autodock Vina program</b> (kcal/ mol)	BIRC3 6.4 kcal/mol	XIAP -3.4 kcal/mol
<b>Seamdock program</b> (kcal/ mol)	FAS -6.4 kcal/mol	FAS- XIAP -4.2 kcal/mol
<b>SwissDock program</b> (kcal/ mol)	CD27 -5.83 kcal/mol	CD27 -5.54 kcal/mol

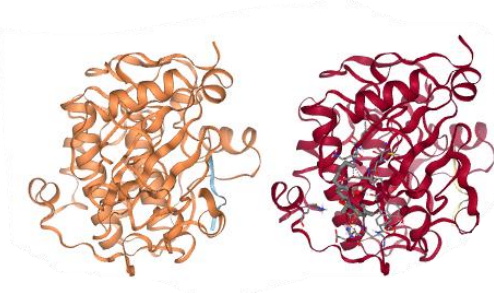
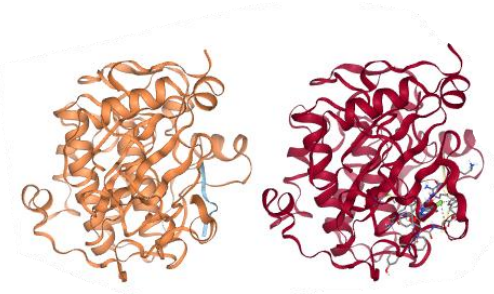

Yukarıda verilen çizelgeye göre en yüksek bağlanma enerjisi CFLAR proteini ile CBN ve 5-FU ligandı arasında sırasıyla -50.7 kcal/mol ve -24.1 kcal/mol olarak hesaplanmıştır. En düşük bağlanma enerjisinin ise CBN ve 5-FU ligandları için sırasıyla -6.4 kcal/mol ve -4.2 kcal/mol ile FAS proteini arasında olduğu belirlenmiştir.

Ligand ve hedef protein arasındaki hidrojen (H) bağları, molekül etkileşimlerde kritik bir rol oynar. Bu hidrojen bağları, proteinin doğru bir şekilde katlanmasını sağlar ve ligandın spesifik bir şekilde bağlanmasını kolaylaştırır. Moleküler kenetleme çalışmalarında bu hidrojen bağlarının varlığını ve etkilerini anlamak için önemlidir. Bu nedenle moleküler kenetlenme çalışmalarında elde edilen bağlanma enerjilerinin yanı sıra protein ve ligand arasında kurulan hidrojen bağlarının da önemli olduğu bilinmektedir. Bu bağların analizi, ligandın hedef proteine bağlanma yeteneğini

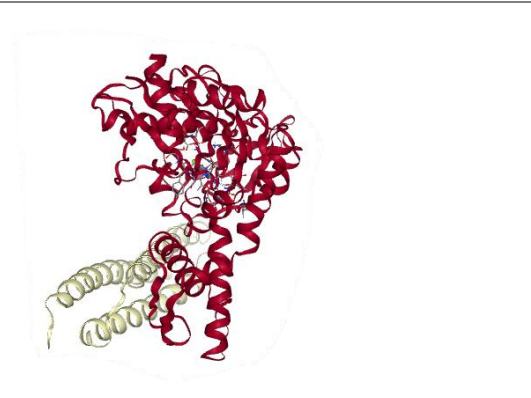


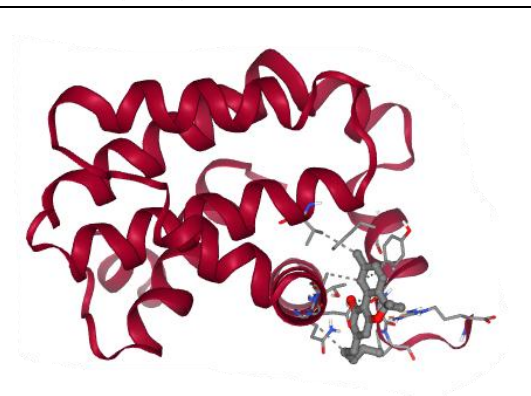
anlamak ve ilaç tasarımı gibi uygulamalarda en iyi şekilde kullanmak için önemlidir. Çalışmada CBN ligandının BIRC3, NFKB1 ve TNF proteinlerinin bağlanma enerjileri Autodock uygulamasına bakarak sırasıyla 9.0 kcal/mol, 7.7 kcal/mol ve 7.7 kcal/mol olmasına rağmen H bağlarının olmadığı belirlenmiştir.

5-FU ligandının en yüksek H bağı CFLAR ve NFKB1 proteinleri arasında olduğu belirlenmiştir.

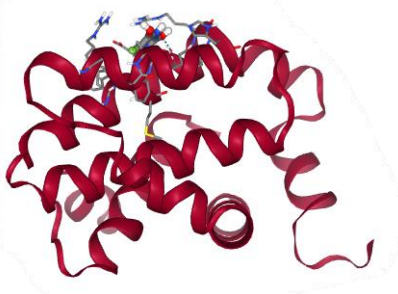
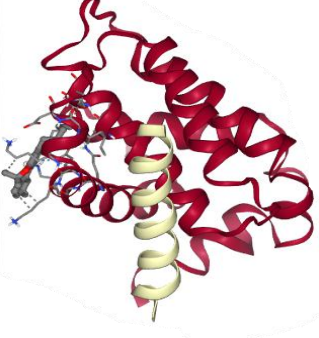

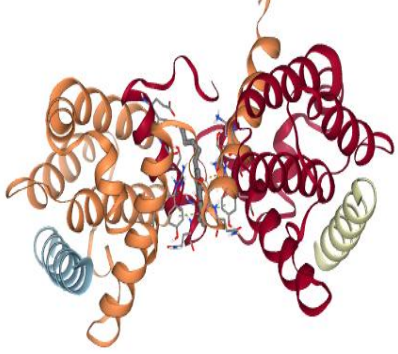
**Tablo 4.4.** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

Protein	Ligand	Binding Position	Number of Hydrogen Bonds									
AKT1 (6BUU)	CBN		Hidrojen Bağ yok.									
	5-FU		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>L156(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E234(A) OE2</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Y437(A) O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		L156(A) O		E234(A) OE2		Y437(A) O	N
Ligand atom	Receptor											
	L156(A) O											
	E234(A) OE2											
	Y437(A) O											
N	NaN() O											
BAG1 (3FZM)	CBN		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>D10(A) OD1</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>D366(A) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	D10(A) OD1	O	D366(A) O			
Ligand atom	Receptor											
O	D10(A) OD1											
O	D366(A) O											

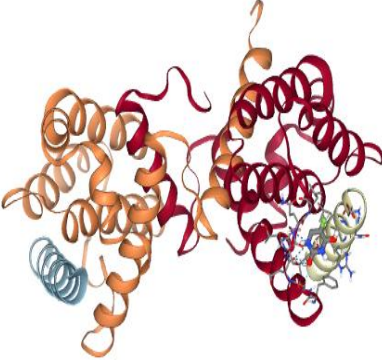
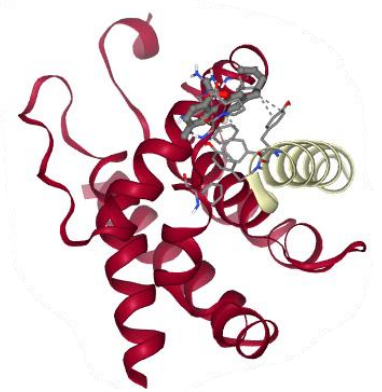
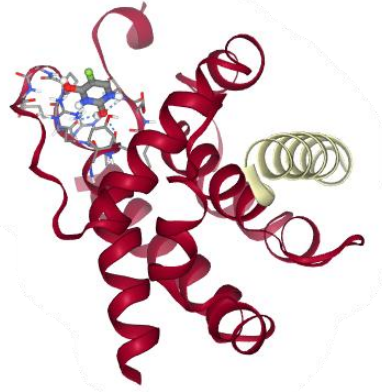
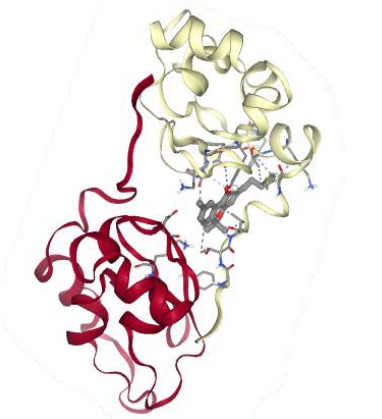
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

	5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>Y15(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D199(A) OD2</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T204(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T204(A) OG1</td> </tr> <tr> <td>OD2</td> <td>NaN() N</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>OG1</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		Y15(A) O		D199(A) OD2		T204(A) O		T204(A) OG1	OD2	NaN() N	N	NaN() O	N	NaN() O	N	NaN() O	N	NaN() O	OG1	NaN() O
Ligand atom	Receptor																								
	Y15(A) O																								
	D199(A) OD2																								
	T204(A) O																								
	T204(A) OG1																								
OD2	NaN() N																								
N	NaN() O																								
N	NaN() O																								
N	NaN() O																								
N	NaN() O																								
OG1	NaN() O																								
BAX (3PK1)	CBN		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>E225(C) OE2</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	E225(C) OE2																		
	Ligand atom	Receptor																							
O	E225(C) OE2																								
5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>E225(A) OE2</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q229(A) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q229(A) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>F273(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>H277(A) ND1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E225(C) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E225(C) OE2</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E225(C) OE2</td> </tr> <tr> <td>ND1</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		E225(A) OE2		Q229(A) OE1		Q229(A) OE1		F273(A) O		H277(A) ND1		E225(C) OE1		E225(C) OE2		E225(C) OE2	ND1	NaN() O			
Ligand atom	Receptor																								
	E225(A) OE2																								
	Q229(A) OE1																								
	Q229(A) OE1																								
	F273(A) O																								
	H277(A) ND1																								
	E225(C) OE1																								
	E225(C) OE2																								
	E225(C) OE2																								
ND1	NaN() O																								
BCL2 (8HTS)	CBN		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>Y202(A) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	Y202(A) O																		
Ligand atom	Receptor																								
O	Y202(A) O																								

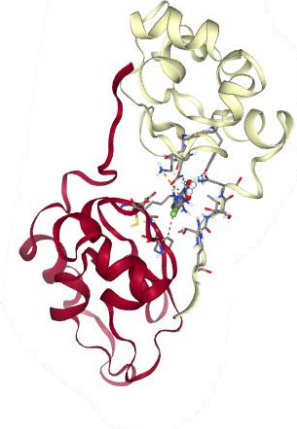
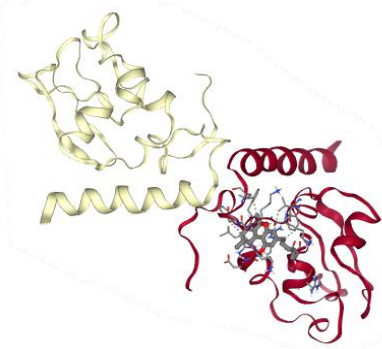
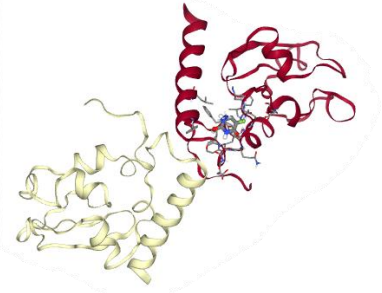

**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

	5-FU		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>W176(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E179(A) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		W176(A) O		E179(A) O												
Ligand atom	Receptor																				
	W176(A) O																				
	E179(A) O																				
BCL2A 1 (6MBB)	CBN		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>E49(A) OE1</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>K46(A) NZ</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	E49(A) OE1	O	K46(A) NZ												
	Ligand atom	Receptor																			
O	E49(A) OE1																				
O	K46(A) NZ																				
	5-FU		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>D15(A) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q18(A) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q18(A) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q25(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>P26(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>G29(A) O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		D15(A) OD1		Q18(A) OE1		Q18(A) OE1		Q25(A) O		P26(A) O		G29(A) O	N	NaN() O	N	NaN() O
Ligand atom	Receptor																				
	D15(A) OD1																				
	Q18(A) OE1																				
	Q18(A) OE1																				
	Q25(A) O																				
	P26(A) O																				
	G29(A) O																				
N	NaN() O																				
N	NaN() O																				
BCL2L 1 (6DCO)	CBN		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>S18(A) OG</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	S18(A) OG														
Ligand atom	Receptor																				
O	S18(A) OG																				


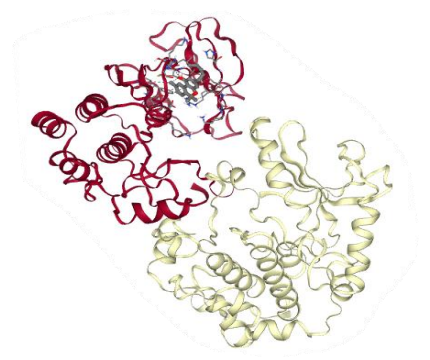
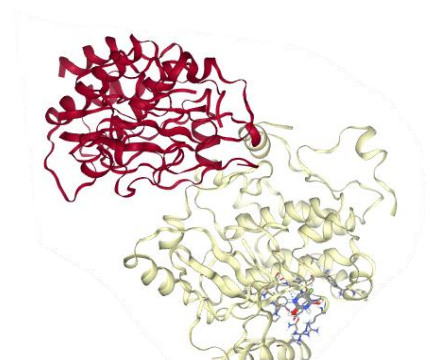
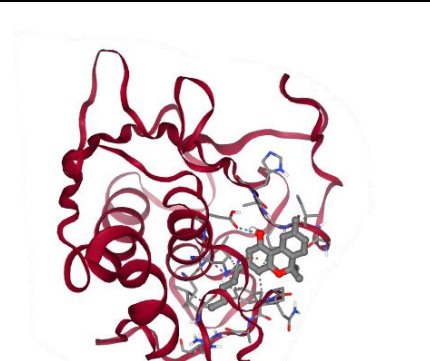
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

	5-FU		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>Y101(A) OH</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D107(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D107(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>L108(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>S110(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>S110(A) OG</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>NaN() N</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		Y101(A) OH		D107(A) O		D107(A) O		L108(A) O		S110(A) O		S110(A) OG	OH	NaN() N
Ligand atom	Receptor																		
	Y101(A) OH																		
	D107(A) O																		
	D107(A) O																		
	L108(A) O																		
	S110(A) O																		
	S110(A) OG																		
OH	NaN() N																		
BCL2L10 (4B4S)	CBN		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>Y73(B) OH</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>R44(A) NE</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	Y73(B) OH	O	R44(A) NE										
	Ligand atom	Receptor																	
O	Y73(B) OH																		
O	R44(A) NE																		
	5-FU		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>S19(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>R21(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>R21(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>R99(A) O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		S19(A) O		R21(A) O		R21(A) O		R99(A) O	N	NaN() O	N	NaN() O		
Ligand atom	Receptor																		
	S19(A) O																		
	R21(A) O																		
	R21(A) O																		
	R99(A) O																		
N	NaN() O																		
N	NaN() O																		
BIRC3 (2UVL)	CBN		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>Y283(B) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	Y283(B) O												
Ligand atom	Receptor																		
O	Y283(B) O																		

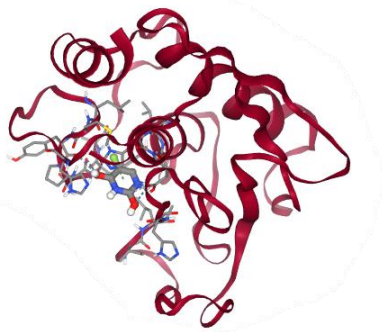
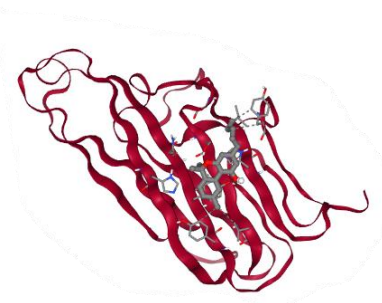
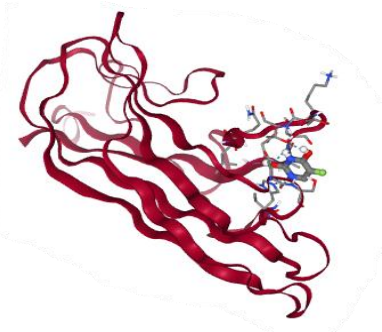
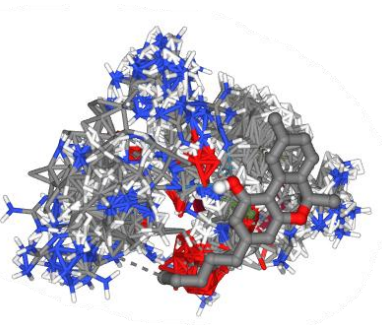
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

	5-FU		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>N249(B) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Y282(B) OH</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Y282(B) OH</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D296(B) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D296(B) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D296(B) OD2</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>NaN() N</td> </tr> <tr> <td>NH2</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		N249(B) OD1		Y282(B) OH		Y282(B) OH		D296(B) OD1		D296(B) OD1		D296(B) OD2	OH	NaN() N	NH2	NaN() O	OH	NaN() O
Ligand atom	Receptor																						
	N249(B) OD1																						
	Y282(B) OH																						
	Y282(B) OH																						
	D296(B) OD1																						
	D296(B) OD1																						
	D296(B) OD2																						
OH	NaN() N																						
NH2	NaN() O																						
OH	NaN() O																						
<b>BIRC5 (1XOX)</b>	CBN		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>Q92(A) OE1</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	Q92(A) OE1																
	Ligand atom	Receptor																					
O	Q92(A) OE1																						
5-FU		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>K91(A) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		K91(A) O																	
Ligand atom	Receptor																						
	K91(A) O																						
<b>BIRC6 (3CEG)</b>	CBN		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>E4618(B) OE1</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	E4618(B) OE1																
Ligand atom	Receptor																						
O	E4618(B) OE1																						

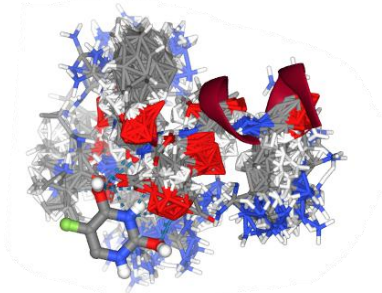


**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

	5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>E4599(B) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E4618(B) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T4619(B) OG1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q4715(B) OE1</td> </tr> <tr> <td>) OG1</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		E4599(B) OE1		E4618(B) O		T4619(B) OG1		Q4715(B) OE1	) OG1	NaN() O	
Ligand atom	Receptor															
	E4599(B) OE1															
	E4618(B) O															
	T4619(B) OG1															
	Q4715(B) OE1															
) OG1	NaN() O															
BRAF (2Y4I)	CBN		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>C742(B) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	C742(B) O									
	Ligand atom	Receptor														
O	C742(B) O															
5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>Q46(C) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>P124(C) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>P124(C) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>G202(C) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E203(C) OE2</td> </tr> <tr> <td></td> <td>I204(C) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		Q46(C) OE1		P124(C) O		P124(C) O		G202(C) O		E203(C) OE2		I204(C) O
Ligand atom	Receptor															
	Q46(C) OE1															
	P124(C) O															
	P124(C) O															
	G202(C) O															
	E203(C) OE2															
	I204(C) O															
CD27 (1JJ9)	CBN		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>E198(A) OE1</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	E198(A) OE1									
Ligand atom	Receptor															
O	E198(A) OE1															

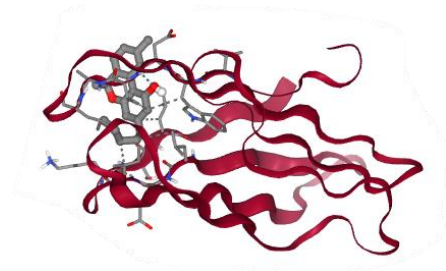
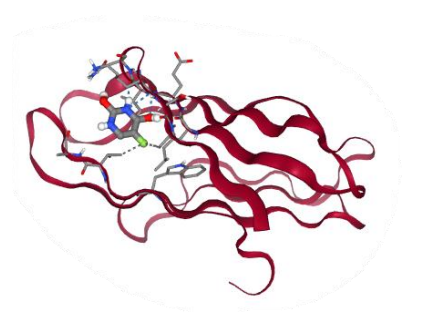

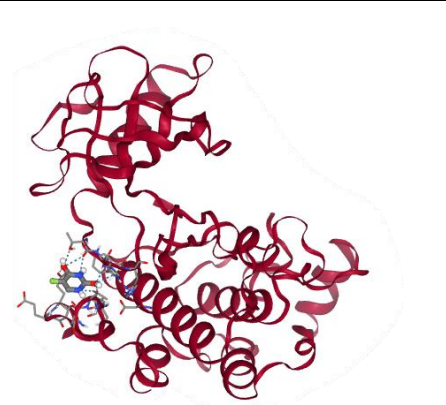
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

	5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>E198(A) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E198(A) OE1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Y216(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>N218(A) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		E198(A) OE1		E198(A) OE1		Y216(A) O		N218(A) O			
Ligand atom	Receptor															
	E198(A) OE1															
	E198(A) OE1															
	Y216(A) O															
	N218(A) O															
CD40L G (1ALY)	CBN		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>Y172(A) OH</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	Y172(A) OH									
	Ligand atom	Receptor														
O	Y172(A) OH															
5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>T135(A) OG1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T135(A) OG1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>P244(A) O</td> </tr> <tr> <td>OG1</td> <td>NaN() N</td> </tr> <tr> <td>NE2</td> <td>NaN() N</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		T135(A) OG1		T135(A) OG1		P244(A) O	OG1	NaN() N	NE2	NaN() N	N	NaN() O
Ligand atom	Receptor															
	T135(A) OG1															
	T135(A) OG1															
	P244(A) O															
OG1	NaN() N															
NE2	NaN() N															
N	NaN() O															
CFLAR (2N5R)	CBN		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>V1(A) N</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>R3(A) O</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>R3(A) O</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>R3(A) NH2</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	V1(A) N	O	R3(A) O	O	R3(A) O	O	R3(A) NH2			
Ligand atom	Receptor															
O	V1(A) N															
O	R3(A) O															
O	R3(A) O															
O	R3(A) NH2															



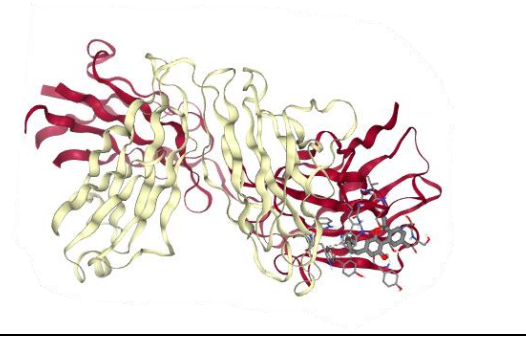
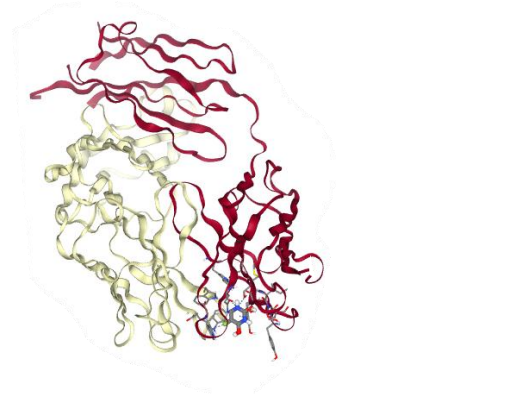
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

	<b>5-FU</b>		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td></td><td>V1(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>V1(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>V1(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>R3(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>R3(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>R3(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD1</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD2</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD1</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD2</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD1</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD2</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD2</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD2</td></tr> <tr><td></td><td>D5(A) OD2</td></tr> <tr><td>H1</td><td>NaN() N</td></tr> <tr><td>H1</td><td>NaN() N</td></tr> <tr><td>D1</td><td>NaN() O</td></tr> <tr><td>H1</td><td>NaN() O</td></tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		V1(A) O		V1(A) O		V1(A) O		R3(A) O		R3(A) O		R3(A) O		D5(A) OD1		D5(A) OD2		D5(A) OD1		D5(A) OD2		D5(A) OD1		D5(A) OD2		D5(A) OD2		D5(A) OD2		D5(A) OD2	H1	NaN() N	H1	NaN() N	D1	NaN() O	H1	NaN() O
Ligand atom	Receptor																																										
	V1(A) O																																										
	V1(A) O																																										
	V1(A) O																																										
	R3(A) O																																										
	R3(A) O																																										
	R3(A) O																																										
	D5(A) OD1																																										
	D5(A) OD2																																										
	D5(A) OD1																																										
	D5(A) OD2																																										
	D5(A) OD1																																										
	D5(A) OD2																																										
	D5(A) OD2																																										
	D5(A) OD2																																										
	D5(A) OD2																																										
H1	NaN() N																																										
H1	NaN() N																																										
D1	NaN() O																																										
H1	NaN() O																																										
<b>DAPK1 (SAUT)</b>	<b>CBN</b>		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>O</td><td>K42(A) NZ</td></tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	K42(A) NZ																																				
	Ligand atom	Receptor																																									
O	K42(A) NZ																																										
<b>5-FU</b>		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td></td><td>Y208(A) OH</td></tr> <tr><td></td><td>S215(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>P216(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>P216(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>L218(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>E235(A) O</td></tr> <tr><td></td><td>E237(A) OE2</td></tr> <tr><td>OH</td><td>NaN() O</td></tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		Y208(A) OH		S215(A) O		P216(A) O		P216(A) O		L218(A) O		E235(A) O		E237(A) OE2	OH	NaN() O																							
Ligand atom	Receptor																																										
	Y208(A) OH																																										
	S215(A) O																																										
	P216(A) O																																										
	P216(A) O																																										
	L218(A) O																																										
	E235(A) O																																										
	E237(A) OE2																																										
OH	NaN() O																																										

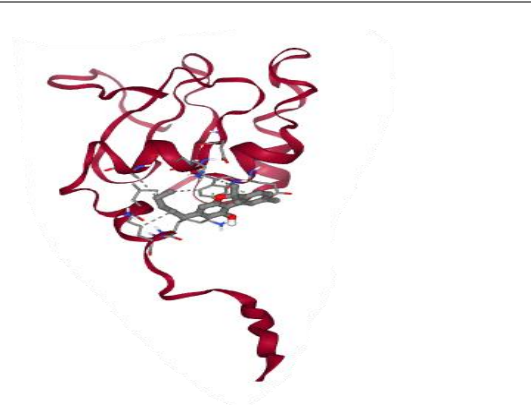
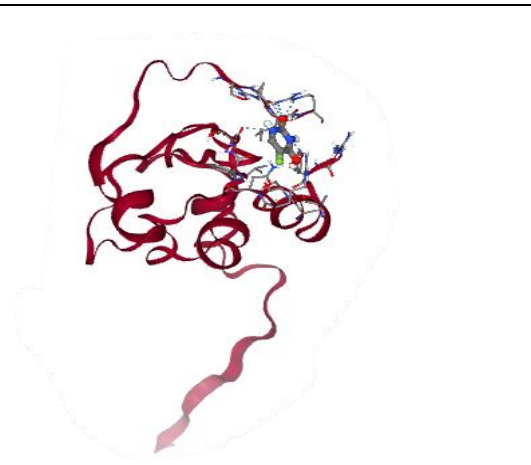

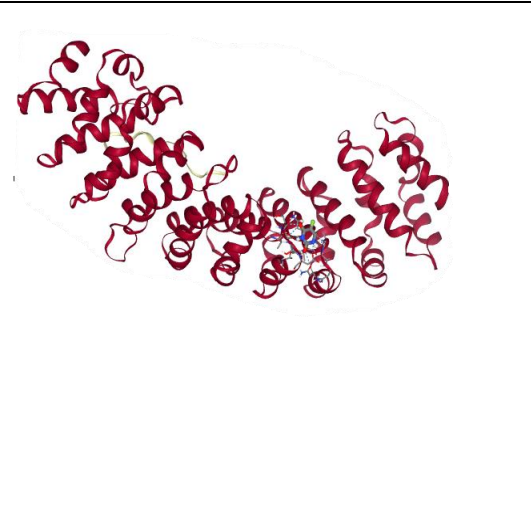
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

<b>FAS (3MX7)</b>	<b>CBN</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>D9(A) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	D9(A) O																			
	Ligand atom	Receptor																								
O	D9(A) O																									
<b>5-FU</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>L79(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>I81(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>K84(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>K84(A) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		L79(A) O		I81(A) O		K84(A) O		K84(A) O														
Ligand atom	Receptor																									
	L79(A) O																									
	I81(A) O																									
	K84(A) O																									
	K84(A) O																									
<b>IGF1R (5E1S)</b>	<b>CBN</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>M1079(A) N</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	M1079(A) N																			
	Ligand atom	Receptor																								
O	M1079(A) N																									
<b>5-FU</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>T1055(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T1055(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T1055(A) OG1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>C1056(A) SG</td> </tr> <tr> <td></td> <td>V1274(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>V1274(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>S1275(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>E1281(A) OE2</td> </tr> <tr> <td>) OG1</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>) N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>) SG</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		T1055(A) O		T1055(A) O		T1055(A) OG1		C1056(A) SG		V1274(A) O		V1274(A) O		S1275(A) O		E1281(A) OE2	) OG1	NaN() O	) N	NaN() O	) SG	NaN() O
Ligand atom	Receptor																									
	T1055(A) O																									
	T1055(A) O																									
	T1055(A) OG1																									
	C1056(A) SG																									
	V1274(A) O																									
	V1274(A) O																									
	S1275(A) O																									
	E1281(A) OE2																									
) OG1	NaN() O																									
) N	NaN() O																									
) SG	NaN() O																									

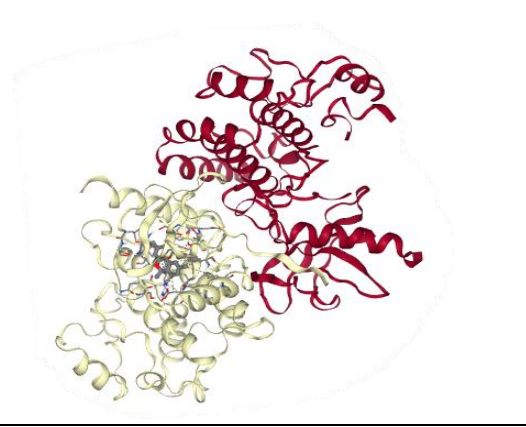
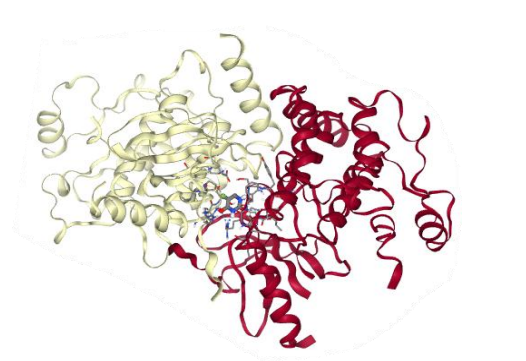
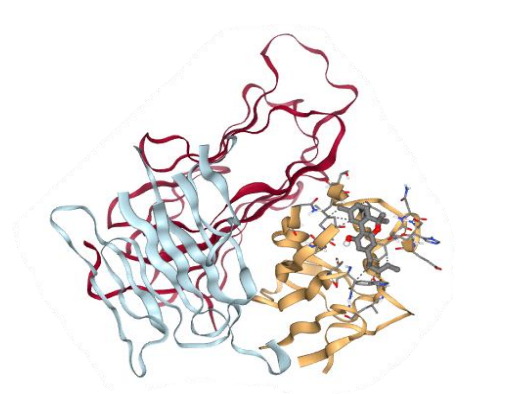
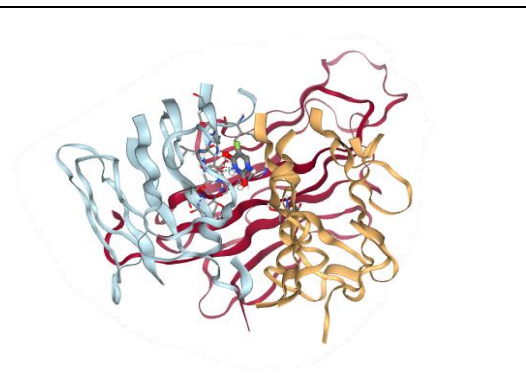
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

<b>IL10 (1M4R)</b>	<b>CBN</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>E77(B) OE2</td> </tr> <tr> <td>O</td> <td>K78(B) NZ</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	E77(B) OE2	O	K78(B) NZ									
	Ligand atom	Receptor																
O	E77(B) OE2																	
O	K78(B) NZ																	
<b>5-FU</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>M85(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>N176(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>A177(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>I179(A) OT2</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T70(B) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D71(B) O</td> </tr> <tr> <td>OT2</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		M85(A) O		N176(A) O		A177(A) O		I179(A) OT2		T70(B) O		D71(B) O	OT2	NaN() O
Ligand atom	Receptor																	
	M85(A) O																	
	N176(A) O																	
	A177(A) O																	
	I179(A) OT2																	
	T70(B) O																	
	D71(B) O																	
OT2	NaN() O																	
<b>MCL1 (6QBC)</b>	<b>CBN</b>		<p><b>weak hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>C</td> <td>S33(H) OG</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	C	S33(H) OG											
	Ligand atom	Receptor																
C	S33(H) OG																	
<b>5-FU</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>S33(H) OG</td> </tr> <tr> <td></td> <td>S50(H) OG</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q99(H) OE1</td> </tr> <tr> <td>OG</td> <td>NaN() N</td> </tr> <tr> <td>OG</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		S33(H) OG		S50(H) OG		Q99(H) OE1	OG	NaN() N	OG	NaN() O				
Ligand atom	Receptor																	
	S33(H) OG																	
	S50(H) OG																	
	Q99(H) OE1																	
OG	NaN() N																	
OG	NaN() O																	


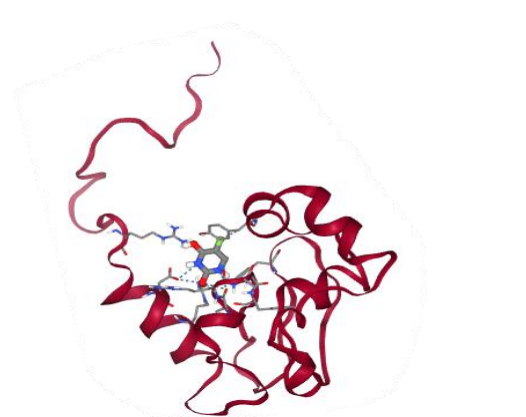
**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

NAIP (2VM5)	CBN		Hidrojen Bağ yok.																									
	5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>R148(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Y156(A) OH</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Y156(A) OH</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T189(A) O</td> </tr> <tr> <td>OH</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>NE</td> <td>NaN() O</td> </tr> <tr> <td>NH2</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		R148(A) O		Y156(A) OH		Y156(A) OH		T189(A) O	OH	NaN() O	N	NaN() O	NE	NaN() O	NH2	NaN() O							
Ligand atom	Receptor																											
	R148(A) O																											
	Y156(A) OH																											
	Y156(A) OH																											
	T189(A) O																											
OH	NaN() O																											
N	NaN() O																											
NE	NaN() O																											
NH2	NaN() O																											
NFKB1 (7LFC)	CBN		Hidrojen Bağ yok.																									
	5-FU		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>V312(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>V312(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T313(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>G314(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D316(A) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D316(A) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>T319(A) OG1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>N352(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>N352(A) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>A355(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>Q360(A) OE1</td> </tr> <tr> <td>OG1</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		V312(A) O		V312(A) O		T313(A) O		G314(A) O		D316(A) OD1		D316(A) OD1		T319(A) OG1		N352(A) O		N352(A) OD1		A355(A) O		Q360(A) OE1	OG1
Ligand atom	Receptor																											
	V312(A) O																											
	V312(A) O																											
	T313(A) O																											
	G314(A) O																											
	D316(A) OD1																											
	D316(A) OD1																											
	T319(A) OG1																											
	N352(A) O																											
	N352(A) OD1																											
	A355(A) O																											
	Q360(A) OE1																											
OG1	NaN() O																											

**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

<b>RIPK2 (6FU5)</b>	<b>CBN</b>		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>T95(B) OG1</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	T95(B) OG1									
	Ligand atom	Receptor														
O	T95(B) OG1															
<b>5-FU</b>		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>F75(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>F75(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>I78(A) O</td> </tr> <tr> <td>NE</td> <td>NaN() N</td> </tr> <tr> <td>NH1</td> <td>NaN() N</td> </tr> <tr> <td>NH1</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		F75(A) O		F75(A) O		I78(A) O	NE	NaN() N	NH1	NaN() N	NH1	NaN() O
Ligand atom	Receptor															
	F75(A) O															
	F75(A) O															
	I78(A) O															
NE	NaN() N															
NH1	NaN() N															
NH1	NaN() O															
<b>TNF (3B93)</b>	<b>CBN</b>		Hidrojen Bağ yok.													
	<b>5-FU</b>		<p><i>hydrogen bond</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>G137(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>N135(C) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>N135(C) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>G137(C) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>G137(C) O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		G137(A) O		N135(C) O		N135(C) OD1		G137(C) O		G137(C) O	
Ligand atom	Receptor															
	G137(A) O															
	N135(C) O															
	N135(C) OD1															
	G137(C) O															
	G137(C) O															

**Tablo 4.4(devam).** CBN ve 5-FU Ligandların Apoptotik Proteinler ile aralarındaki Hidrojen Bağları.

<b>XIAP (1TFQ)</b>	<b>CBN</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>O</td> <td>Q333(A) OE1</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor	O	Q333(A) OE1									
	Ligand atom	Receptor														
O	Q333(A) OE1															
<b>5-FU</b>		<p><b>hydrogen bond</b></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ligand atom</th> <th>Receptor</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td>D264(A) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>D264(A) OD1</td> </tr> <tr> <td></td> <td>A285(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>A285(A) O</td> </tr> <tr> <td></td> <td>R286(A) O</td> </tr> <tr> <td>NH1</td> <td>NaN() O</td> </tr> </tbody> </table>	Ligand atom	Receptor		D264(A) OD1		D264(A) OD1		A285(A) O		A285(A) O		R286(A) O	NH1	NaN() O
Ligand atom	Receptor															
	D264(A) OD1															
	D264(A) OD1															
	A285(A) O															
	A285(A) O															
	R286(A) O															
NH1	NaN() O															

Yapılan bir çalışmada, CBD, CBG ve CBN'nin Epidermal büyüme faktörü reseptörleri (EGFR) üzerindeki bağlanma afinitesini ve inhibitör özellikleri araştırılmıştır. Moleküler kenetleme çalışmalarına göre CBN'nin inhibitör aktivitesinin diğer iki bileşiğe göre daha zayıf olduğu bulunmuştur. CBD ve CBG'nin EGFR-TK'ye yüksek bağlanma afinitesine sahipken CBN'nin diğer bileşiklere göre daha düşük afiniteye sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmada yapılan hesaplamalı analiz sonucunda kannabinoidlerin bir hidroksil grubu ile EGFR-TK'nin Thr766, Gln767 ve Met769'u arasındaki hidrofobik etkileşimin ve hidrojen bağının, üç kanabinoidin EGFR-TK'nin aktif bölgesine stabil bir şekilde yerleştirilmesini sağladığı bulunmuştur (105).

CBN bileşiği ve 5-Fu ilacının hedef proteinlerle birlikte bağlanma enerjisi tek tek enerjileri online docking programı swissdock, seamdock ve autodock kullanılarak test edilmiştir. İkili ligand bağlanırken önce birinci ligand proteine bağlayarak daha sonra diğer kimyasalın bu kompleks yapıya bağlanma enerjisine bakılmıştır ve tek başına bağlanma enerjileri karşılaştırılmaları Tablo 3.5'te gösterilmiştir.

**Tablo 4.5.** Serbest ikinci ligandın protein-ligand kompleksine bağlanma enerjisi ile ligandın tek bağlanma enerjisinin karşılaştırılması.

<b>Protein</b>	<b>Ligand</b>	<b>Autodock Vina (Kcal/mol)</b>	<b>Protein-Ligand kompleksi</b>	<b>Serbest İkinci Ligand</b>	<b>Autodock Vina (Kcal/mol)</b>
<b>CD40LG (1ALY)</b>	<b>CBN</b>	-6.8	<b>CD40LG+5-FU</b>	<b>CBN</b>	-6.7
<b>CD40LG (1ALY)</b>	<b>5-FU</b>	-4.1	<b>CD40LG+CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.3
<b>CD27 (1JJ9)</b>	<b>CBN</b>	-7.2	<b>CD27 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.3
<b>CD27 (1JJ9)</b>	<b>5-FU</b>	-4.1	<b>CD27 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.4
<b>IL10 (1M4R)</b>	<b>CBN</b>	-7.5	<b>IL10 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.0
<b>IL10 (1M4R)</b>	<b>5-FU</b>	-4.0	<b>IL10 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.4
<b>XIAP (1TFQ)</b>	<b>CBN</b>	-7.5	<b>XIAP +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.3
<b>XIAP (1TFQ)</b>	<b>5-FU</b>	-3.4	<b>XIAP +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-3.5
<b>BIRC5 (1XOX)</b>	<b>CBN</b>	-6.7	<b>BIRC5 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-6.4
<b>BIRC5 (1XOX)</b>	<b>5-FU</b>	-4.8	<b>BIRC5 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.8
<b>NAIP (2VM5)</b>	<b>CBN</b>	-7.6	<b>NAIP +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.4
<b>NAIP (2VM5)</b>	<b>5-FU</b>	-4.4	<b>NAIP +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.2

**Tablo 4.5(devam).** Serbest ikinci ligandın protein-ligand kompleksine bağlanma enerjisi ile ligandın tek bağlanma enerjisinin karşılaştırılması

<b>TNF (3B93)</b>	<b>CBN</b>	-7.7	<b>TNF +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.1
<b>TNF (3B93)</b>	<b>5-FU</b>	-4.5	<b>TNF +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.6
<b>BIRC6 (3CEG)</b>	<b>CBN</b>	-8.1	<b>BIRC6 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.4
<b>BIRC6 (3CEG)</b>	<b>5-FU</b>	-5.1	<b>BIRC6 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.4
<b>BAG1 (3FZM)</b>	<b>CBN</b>	-7.6	<b>BAG1 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.7
<b>BAG1 (3FZM)</b>	<b>5-FU</b>	-5.4	<b>BAG1 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-5.1
<b>FAS (3MX7)</b>	<b>CBN</b>	-7.0	<b>FAS +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.0
<b>FAS (3MX7)</b>	<b>5-FU</b>	-3.6	<b>FAS +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-3.8
<b>BAX (3PK1)</b>	<b>CBN</b>	-7.3	<b>BAX +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.4
<b>BAX (3PK1)</b>	<b>5-FU</b>	-4.0	<b>BAX +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.4
<b>BCL2L1 0 (4B4S)</b>	<b>CBN</b>	-7.6	<b>BCL2L10 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.7
<b>BCL2L1 0 (4B4S)</b>	<b>5-FU</b>	-3.5	<b>BCL2L10 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-3.6
<b>AKT1 (6BUU)</b>	<b>CBN</b>	-7.4	<b>AKT1+5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.1
<b>AKT1 (6BUU)</b>	<b>5-FU</b>	-4.2	<b>AKT1+CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.9

**Tablo 4.5(devam).** Serbest ikinci ligandın protein-ligand kompleksine bağlanma enerjisi ile ligandın tek bağlanma enerjisinin karşılaştırılması

<b>DAPK1 (5AUT)</b>	<b>CBN</b>	-8.7	<b>DAPK1 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.7
<b>DAPK1 (5AUT)</b>	<b>5-FU</b>	-4.3	<b>DAPK1 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.7
<b>IGF1R (5E1S)</b>	<b>CBN</b>	-7.2	<b>IGF1R +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.2
<b>IGF1R (5E1S)</b>	<b>5-FU</b>	-4.0	<b>IGF1R +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-3.8
<b>BIRC3 (2UVL)</b>	<b>CBN</b>	-9.0	<b>BIRC3 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-6.6
<b>BIRC3 (2UVL)</b>	<b>5-FU</b>	-4.2	<b>BIRC3 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.4
<b>BCL2L1 (6DCO)</b>	<b>CBN</b>	-9.1	<b>BCL2L1 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.7
<b>BCL2L1 (6DCO)</b>	<b>5-FU</b>	-4.7	<b>BCL2L1 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.8
<b>RIPK2 (6FU5)</b>	<b>CBN</b>	-8.7	<b>RIPK2 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-10.0
<b>RIPK2 (6FU5)</b>	<b>5-FU</b>	-5.4	<b>RIPK2 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-5.3
<b>BCL2A1 (6MBB)</b>	<b>CBN</b>	-7.4	<b>BCL2A1 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.6
<b>BCL2A1 (6MBB)</b>	<b>5-FU</b>	-3.9	<b>BCL2A1 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-3.8
<b>NFKB1 (7LFC)</b>	<b>CBN</b>	-7.7	<b>NFKB1 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-7.4

**Tablo 4.5(devam).** Serbest ikinci ligandın protein-ligand kompleksine bağlanma enerjisi ile ligandın tek bağlanma enerjisinin karşılaştırılması

<b>NFKB1 (7LFC)</b>	<b>5-FU</b>	-3.7	<b>NFKB1 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-3.8
<b>HRK (7P0U)</b>	<b>CBN</b>	-8.4	<b>HRK +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.0
<b>HRK (7P0U)</b>	<b>5-FU</b>	-5.3	<b>HRK +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-5.0
<b>BCL2 (8HTS)</b>	<b>CBN</b>	-8.9	<b>BCL2 +5-FU</b>	<b>CBN</b>	-8.2
<b>BCL2 (8HTS)</b>	<b>5-FU</b>	-4.9	<b>BCL2 +CBN</b>	<b>5-FU</b>	-4.3

## 5. TARTIŞMA

Birçok kanabinoid çeşidi, kanabinoid reseptörleri veya diğer ilişkili reseptörler ile etkileşime girerek antikanser özellikler göstermektedir (96). CBN bileşiğinin yapılan çalışmalar sonucunda anti inflamatuvar, antibakteriyel antitümör gibi tıbbi özelliklerinin olduğu bulunmuştur (45). Yapılan bu çalışmada, zayıf psikoaktif kanabinoid çeşidi olan CBN'nin dünyada ve ülkemizde en çok görülen kanser türlerinden olan meme ve rahim ağzı kanseri hücre hatları üzerindeki antikanser etkisi incelenmiştir. Böylece üzerine çok fazla çalışma yapılmamış olan kenevir bitkisinden elde edilen CBN bileşiği ve bunun yanında meme, pankreas kanserinde kullanılan 5-fluorourasil ilacının ayrı ayrı ve birlikte kullanılarak antikanser etken maddesi olabilme potansiyeli araştırılarak kanser tedavisinde kullanım imkânı vurgulanmaya çalışılmıştır.

Sonuçlarımız, CBN'nin MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ve HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattının büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir. Çalışmanın ilk aşamasında maddelerimize optimizasyon çalışması yaparak kanser hücre hatları üzerindeki dozlar belirlenmiştir (Tablo 3.2.). Daha sonra belirlenen dozlar MDA-MB-453 ve HeLa hücre hatları üzerinde değerlendirilmiştir. Kenevir bitkisinden elde edilen kanabinoidler kanser hücre göçü, istilası ve metastazı üzerinde etkili olduğu birçok çalışma ile belirlenmiştir. Ancak kanabinoidin ana bileşiklerinden olan ve kökeni bakımından farklılık gösteren CBN ile ilgili kanabinoid çeşitlerine göre antikanser etkisi olduğuna dair çok az çalışma yapılmıştır. Bizde bu çalışmamızda Schoeman ve ark., yapmış olduğu çalışma olan CBN'nin MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatları üzerinde sinerjistik antikanser potansiyel değerlendirmesini baz alarak çalışmamızda meme kanseri hücre hattı olan MDA-MB-453 ve rahim ağzı kanseri hücre hattı olan HeLa üzerindeki etkisini araştırdık (97). CBN ilacının antiproliferatif etkisi ilk defa 1975 yılında Munson ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada CBN'nin akciğer adenokarsinom hücre büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir. 20 gün boyunca art arda CBN ile tedavi edilen farelerde primer tümör boyutunun küçüldüğü belirlenmiştir (98). Bizde bu çalışmada CBN'nin MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattı ve HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkisini araştırmayı

amaçladık. Yaptığımız çalışma sonucunda CBN'nin her iki hücre hattı üzerinde de doza bağlı olarak etkisinin olduğu belirlenmiştir. MDA-MB-453 hücre hattı üzerine 50  $\mu$ M CBN'nin etkili olduğu görülmüştür. Bu değerler HeLa hücre hattı üzerinde de denenmiş ve bu hücre hattı üzerinde de 50  $\mu$ M'de 72. Saat sonunda etkisini gösterdiği belirlenmiştir. CBN'nin MDA-MB-453 hücre hattında HeLa hücre hattına kıyasla hücre çoğalmasını daha fazla etkilediği hücre ölümlerinin daha çok olduğu görülmüştür. Tez çalışmamızda kullandığımız 5-fluorourasil ilacı genellikle kolorektal, pankreas ve meme kanseri tedavilerinde kullanılan bir ilaçtır. 5-FU kısa yarı ömrü ve değişken oral biyoyararlanımına sahip ve çeşitli kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir kemoterapi ajanıdır. DNA sentezini inhibe ederek kanser hücrelerinin büyümesini engeller ve kanserli hücreler üzerinde %10'luk bir yanıt oranına sahiptir. Bu nedenle genellikle irinotekan, lökovorin gibi diğer ilaçlarla birlikte kullanılmaktadır (80). Sağlıklı hücrelerin üzerinde de toksik etkiye neden olmaktadır. Bundan yola çıkarak 5-FU ilacının yanında toksik etkiye sahip olan ilaçlar yerine antikanser etkiye sahip CBN bileşiği ile kanser hücreleri üzerindeki etkisini araştırdık. Bunun yanında genellikle kemoterapi ilaçlarının etkilerinin 2B ve 3B oluşturulmuş hücre hatlarında kıyaslandığı görülmüştür. 5-Fu ilacının İlk başta tek başına daha sonra kombinasyon halindeki etkilerini gözlemledik. Çalışmamızda 5-FU ilacı MDA-MB-453 ve HeLa hücre hatları üzerinde 48. Saat sonunda 1  $\mu$ M dozunda etkili olduğu gözlemlendi. 5-FU ilacının her iki hücre hattında da hücreleri tamamen öldürdüğü ve besiyeri içerisinde yüzdüğü görülmektedir. İki maddeyi karşılaştırdığımızda 5-FU'nun CBN maddesine göre 48. Saatte etkisini daha iyi gösterdiği belirlenmiştir. Dolayısıyla 5-FU ilacının kullanıldığı kolorektal kanser hücre hatlarının yanı sıra meme ve rahim ağzı hücre hatlarında da etkili olduğunu söyleyebiliriz.

Kanser hücrelerinin hareketliliğinin belirlenmesinde kullanılan in vitro çalışmalarda migrasyon ve invazyon özelliklerinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Yaptığımız migrasyon deneyinde öncelikle MDA-MB-453 ve HeLa hücre hatlarına 2.2.5.1.'de anlatıldığı gibi yara açılmıştır. İlaç uygulanmış hücrelerin yara açıklığı 24, 48 ve 72. Saatlerdeki değişimleri değerlendirilmiştir. HeLa hücre hattının MDA-MB-453 hücre hattına göre yarayı kapatma sürecinde gözlenen farkın, HeLa hücre hattının daha hızlı çoğalma özelliğinden kaynaklandığı söylenebilir.

MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattında metastaz yeteneğini en iyi baskılayan 5-FU ilacı olmuştur. 5-FU ilacı 5  $\mu$ M doz ile 48 saat içinde yara çekilen yerlerdeki

hücrelerde direk ölümler gözlemlenmiştir. CBN'nin ise en düşük doz 25  $\mu\text{M}$  72 saatte hücreler arası göçü engellediği 100  $\mu\text{M}$  uygulanan hücrelerde ise 72. Saat sonra hücreler direk ölüm ile sonuçlandığı görülmektedir. Kombinasyon halinde verilen maddelerinin sonunda ise 100  $\mu\text{M}$  CBN + 1  $\mu\text{M}$  5-FU ilacı 48 saat sonra hücrelerin direk ölüme götürerek hücreler besiyeri içinde yüzdüğü gözlemlenmiştir.

HeLa hücre hattında yapılan migrasyon deneyi sonuçlarına baktığımızda ise CBN'nin kontrol ile kıyasladığımızda 10  $\mu\text{M}$ 'de hücreler arasındaki metastaz yeteneğini engellediği görülmektedir. Fakat 5-FU ilacında en yüksek doz olan 50  $\mu\text{M}$ 'de 72. Saat sonunda hücreler arası göçün hala devam ettiği görülmektedir. CBN ve 5-FU kombinasyonu sonucunda hücrelerde 10  $\mu\text{M}$  CBN + 10  $\mu\text{M}$  5-FU 48. Saat sonunda hücre göçünü engellediği ve 72 saat sonunda hücreleri direk ölüme götürdüğü görülmektedir. Yapılan deney sonucunda CBN'nin her iki hücre hattı olan MDA-MB-453 ve HeLa hücrelerinde de 72 saat sonra hücrelerin direk ölümle sonuçlandığı, 5-FU ilacının ise HeLa hücre hattına kıyasla MDA-MB-453 hücre hattında daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

İnvazyon deneyi kanser hücrelerinin metastaz yeteneğinin araştırılmasında kullanılan bir diğer in vitro yöntemdir. İnvazyon deneyleri genellikle migrasyon deneyleri ile birlikte değerlendirilir. Çalışmamızda invazyon deney sonuçları migrasyon deneyi ile paralel olarak aynı olduğu gözlemlenmiştir. MDA-MB-453 hücre hattında kontrol ile kıyaslandığında CBN'nin en düşük doz 25  $\mu\text{M}$ 'de 48. Saatte etkisinin olduğu görülmektedir. Aynı şekilde 5-FU ilacı 1  $\mu\text{M}$ 'de 48. Saatte etkisini göstermiştir. Kombinasyon sonuçlarına baktığımızda verilen dozların 48. Saatte etkili olduğu ve 300  $\mu\text{M}$  CBN + 5  $\mu\text{M}$  5FU ilacının 24. Saatte etkisini göstermiştir. Sonuç olarak hücrelere maddeler kombinasyon şeklinde verildiğinde birbirlerinin etkilerini artırdığı ve 24 saat sonunda etki gösterdiği görülmektedir. HeLa hücre hattı invazyon deneyinde kontrol ile karşılaştırdığımızda 25  $\mu\text{M}$  CBN maddesinin 72. Saatte etkisini daha çok gösterdiği, 1  $\mu\text{M}$  5-FU ilacının da 48. Saatte etkisini gösterdiği gözlemlenmiştir. Kombinasyon halinde verilen maddelerin tek başına verilen 5-FU ilacına kıyasla daha az hücre ölümü görüldüğü belirlenmiştir. Bunun sonucunda 5-FU ilacı HeLa hücre hattında tek başına daha etkili olduğu kombinasyon halinde 72 saat sonra etkisini gösterdiği ve CBN'nin 5-FU ilacına kıyasla daha az etkisinin olduğu bu nedenle de ilaçların hücrelere etki mekanizmasının farklı olabileceği düşünülmektedir.

Hücre kültürü çalışmalarında düz yüzeyde 2B hücre kültürü deneyleri kullanılarak çalışmalar yürütülmektedir. 2B çalışmalar sayesinde birçok araştırma yapılmış ve araştırmalara katkı sağlamıştır. Ancak 2B çalışmaların araştırmalarda kesin sonuç elde etmede dezavantajları vardır. 2B hücre kültürleri, hücrelerin doğal ortamlarından farklı bir yüzeyde büyümelerini gerektiren bir durumdur. Ancak hücreler doğal ortamlarında 3B bir yapı içerisinde etkileşim halindedir. Bu nedenle hücre etkileşimlerini, hücreleri doğal fonksiyonlarını tam olarak yansıtmayabilir. Kanser hücrelerinde 3B kültürler, tümör hücrelerinin davranışlarını ve hücre ile olan etkileşimlerini, tedaviye olan tepkilerini 2B kültürlerle oranla daha iyi modelleyebilmektedir. 3B hücre kültürü hücrelerin doğal ortamlarını daha yakından incelememize ve daha doğru ve güvenilir sonuçlar elde etmemizi sağlar (99). Bu çalışmamızda 2B hücre kültürüne ek olarak hücrelerimizi 3B olarak geliştirdik ve ilaçlarımızın kanser hücreleri üzerindeki etkilerini araştırdık.

Çalışmada 3.2.1.7.'de anlatıldığı gibi hücreler asılı damlama yöntemi kullanılarak 3B olarak geliştirilmiştir. MDA-MB-453 meme kanseri ve HeLa rahim ağzı kanseri hücre hatlarına CBN bileşiği ve 5-FU ilacı tek tek ve kombinasyon halinde uygulanmıştır. İlk olarak MDA-MB-453 meme kanseri hücre hattına hiçbir ilaç uygulanmamış hali 3.30.'da verilmiştir. Daha sonra hücreye CBN bileşiği uygulanarak değişimleri gözlemlenmiştir. Sonuçlara baktığımızda MDA-MB-453 hücre hattının kürese yapılarında herhangi bir dağılıma görülmemiştir. İn vitro deney koşullarının MDA-MB-453 hücre hattında 24 48 ve 72 saat boyunca gelişiminde olumsuz etkiye neden olmadığı saptanmıştır. Hücre üzerine belirlenen dozlarda 100  $\mu\text{M}$  CBN'nin verilmesiyle 48 saat sonra küresel yapılarının bozulmaya başladığı, 200  $\mu\text{M}$  CBN verilmesiyle 24 saat içinde küresel yapılarının bozulmaya başladığı görülmektedir. 5-FU ilacının MDA-MB-453 hücre hattında etkisine baktığımızda, 1  $\mu\text{M}$  5-FU ilacının 24 saat içerisinde hücrenin küresel yapısının bozulduğu gözlemlenmiştir. Kombinasyon şeklinde uygulandığında ise hücrelerin küresel yapılarının 24 saat içinde bozulmaya başladığı görülmektedir. Aynı işlemler HeLa hücre hattı üzerinden tekrar yapılmıştır ve CBN'nin ve 5-FU ilacının 48 saat içinde hücrelerin küresel yapılarını bozmaya başladığı belirlenmiştir. Kombinasyon şeklinde uyguladığımızda hücre küresel yapılarının 24 saat içinde bozulmaya başladığı gözlemlenmiştir. 3B olarak oluşturulmuş her iki hücre hattında da kontrol grubunda da 24 ve 48 saat süre içerisinde bir değişim olmazken, CBN MDA-MB-453 hücre hattı HeLa hücre hattına göre

doğrudan hücrelere etki ederek öldürücü etki göstermiştir. 5-FU ilacı ise, MDA-MB-453 hücre hattında daha etkili olduğu HeLa hücre hattına daha az etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda da ilaç kombinasyonları şeklinde verilmesiyle etkilerini artırdıkları söylenebilir. Bunun sonucunda da iki ilacın farklı etki mekanizmaları olduğu ve hücre hattına göre değişkenlik gösterdiği, ölüm mekanizmalarının farklı olabileceğini düşündürmektedir. CBN'nin diğer hücre hatlarında da etkisini araştırıldığı çalışmalar vardır. Bir çalışmada, CBN'nin glioma hücrelerinde antitümör aktivite gösterdiği bulunmuştur. CBN, hücre proliferasyonunu azaltarak ve tümör hücrelerinin invazyonunu engelleyerek etkisini göstermiştir. Bunun sonucunda, CBN'nin beyin kanseri tedavisinde potansiyel bir ajan olarak kullanılabilmesi araştırma sonucunda belirlenmiştir (100). Farklı araştırmalar sonucunda CBN maddesinin diğer kannabinoidler ile kombinasyon halinde etkisine bakılmıştır.

Çalışmamızın son aşamasında CBN ve 5-FU maddelerinin belirlenen proteinler üzerinde moleküler kenetleme çalışması yapılmıştır. CBN ve 5-FU maddelerinin hedef proteinlere birlikte bağlanma enerjisi ile tek tek bağlanma enerjileri online docking programı swissdock ve seamdock kullanılarak test edilmiştir. İkili ligand bağlanırken önce kimyasallardan biri proteine bağlanmış, daha sonra diğer kimyasalın bu kompleks yapıya bağlanma enerjisine ve bağlanma pozisyonuna bakılmıştır.

Belirlenen proteinlerin CBN ile olan moleküler kenetleme sonuçlarına göre bağlanma enerjilerinin -5.83 kcal/mol ile -50.7 kcal/mol arasında olduğu belirlenmiştir. Diğer ilacımız olan 5-FU ile proteinler arasında olan moleküler kenetleme sonuçlarına göre bağlanma enerjilerinin -3.4 kcal/mol ve -24.1 kcal/mol arasında olduğu belirlenmiştir. İlaçlar arasında kurulan H bağları ve bağlanma enerjisi dikkate alınarak yapılan değerlendirmede CFLAR proteini CBN ve 5-FU maddeleri ile en iyi antikanser aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara bakarak bitkiden elde edilen bileşik olan CBN, apoptotik proteinler ile etkileşime girerek inhibitör ya da aktivatör olarak kullanılabilmesini düşündürmektedir.

Çalışmamızda maddelerin kombinasyon halinde uygulanması ile RIPK2 proteinine CBN ve 5-FU'nun bağlanma enerjileri saptanmıştır. RIPK2 (serin/treonin/tirozin-protein kinaz 2) proteini, Doğal ve adaptif bağışıklık tepkilerinin modülasyonunda önemli rol oynamaktadır (101). Protein kinaz aktivitesi, NOD1 ve NOD2 sinyal yolları

için vazgeçilmezdir (102). NOD2-RIPK2 kanser ve diğer otoimmün hastalıklarda önemli bir sinyal yoludur (108). Src tirozin kinazı, guanin değişim faktörü ARHGGEF2'nin tirozin fosforilasyonunu etkileyerek NOD2'nin NF-kappa-B aktivasyonunu tetikler (103). RIPK2 ise NF-kappaB'nin güçlü bir aktivatörüdür ve çeşitli uyarılara yanıt olarak apoptozis indükleyicisidir. (104). Bu nedenle RIPK2 proteinini hedef alan bir yaklaşım kanser tedavisi için etkili bir yol olarak düşünülmektedir. Çalışmada özellikle RIPK2+5-FU kombinasyonunun CBN ile olan bağlanma enerjisi son derece yüksek olduğu görülmektedir. Bundan dolayı RIPK2 proteinine ilaçların yüksek bağlanma enerjisi göstermesi kanser oluşumunun engellenmesi açısından son derece önemlidir. Daha sonra yapılacak olan çalışmalarla hedefe yönelik ilaç geliştirme uygulamaları için CBN bileşiğinin kanser tedavisinde umut verici bir ajan olacağı düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ülkemizde en sık görülen kanser türlerinden olan meme ve rahim ağzı kanseri hücre hatları kullanılarak daha önceki çalışmalarla antikanser özelliği olabileceği düşünülen CBN bileşiğinin kemoterapi ilacıyla birlikte kullanılarak antikanser etkisi incelenmiştir. Böylece bitkilerden elde edilen CBN bileşiğinin etken maddesi olabile potansiyeli incelenerek kanser tedavisinde kullanım imkânı vurgulanmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızın ilk aşamasında CBN için optimizasyon çalışması yapılarak kanser hücre hatları üzerindeki öldürücü değerleri belirlenmiştir. CBN ve 5-FU ilacının tek başına ve birlikte uygulandığında MDA-MB453 ve HeLa hücre hatlarının sitotoksik etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Diğer yapılan çalışmalar göz önüne alındığında CBN'nin meme ve rahim ağzı kanserinde de etkili olduğu görülmüştür. İlaç kombinasyonu uygulamalarında ise hücre çoğalmasını engellediği görülmektedir.

Çalışmada elde edilen sonuçlar CBN bileşiğinin meme kanseri ve rahim ağzı kanser türlerinin tedavisinde antikanser etken madde olarak kullanılabileceğini göstermiştir. Son yıllarda yapılmış çalışmalar, kemoterapi gibi tedavilerin olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla antikanser ilaçlar ile bitkilerden elde edilen bileşiklerin birlikte kullanılmasının faydalı olabileceğini ortaya çıkarmıştır. Dolayısıyla bu çalışmada incelenen CBN bileşiğinin hem tek başına hem de kemoterapi ilaçlarıyla birlikte kullanılarak kanser tedavi sürecinde en az yan etkiyle başarılı sonuçlar elde edilmesine yardımcı olabileceği öngörülmektedir. Ayrıca, kanser sürecinde bitki kaynaklı bileşiklerin etkili olduğu mekanizmaların tam olarak anlaşılabilmesi için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmada ilaç geliştirme sürecinin klinik öncesi aşaması olarak uygulanan ilaç etken maddesinin keşfedilmesi, bilgisayar destekli çalışmalar yapılarak zamandan ve iş gücünden tasarruf edilmiştir.

Sonuç olarak bitkilerden elde edilen bileşiklerin kullanımı kanserin önlenmesine katkı sağlayarak oluşan olumsuzlukların en aza indirilmesinde yardımcı olacaktır. Bunun

yanında bitki kaynaklı bileşikler, geleneksel tedavi yöntemleri uygulanması sonucunda oluşan yan etkilerin hafifletilmesi içinde iyi bir alternatif tedavi olarak görülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Guzmán M. Cannabinoids: potential anticancer agents. *Nat Rev Cancer*. 2003 Oct;3(10):745-55.
2. WHO. Cancer. 2020. [Erişim Tarihi: 14. Eylül 2023]. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
3. Sharma G, Dave R, Sanadya J, Sharma P, Sharma K. K. Various Types and Management of Breast Cancer: An Overview. *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry*. 2010; 33–45.
4. Yalçınkaya S, Azarkan SY, Çakmakçı AGK. Determination of the effect of *L. plantarum* AB6-25, *L. plantarum* MK55 and *S. boulardii* T8-3C microorganisms on colon, cervix, and breast cancer cell lines: Molecular docking, and molecular dynamics study. *Journal of Molecular Structure*. 2022; 1261: 132939.
5. Lansdowne LE. Tumor Biology. *Technology Networks*. [İnternet]. 2022. [Erişim tarihi 27 Aralık 2023]. Erişim adresi: <http://www.technologynetworks.com/cancer-research/infographics/tumor-biology-359548>
6. National Cancer Institute. External Beam Radiation Therapy for Cancer. [İnternet]. 2018. [Erişim tarihi: 14 Ocak 2024]. Erişim adresi: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/radiationtherapy/externalbeam#:~:text=External%20beam%20radiation%20therapy%20uses,from%202%20to%2010%20weeks>.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
8. Lodish H, Berk A, Kaiser CA, Krieger M, Bretscher A, Ploegh H, et al. *Cancer Biology, Molecular Cell Biology*, 2011; In: Freeman WF, Chapter 10, Palme, New York, 1107-1110.
9. Whelan S. Benign vs Malignant Tumors, *Technology Networks*. 2022; [Erişim tarihi: 15 Aralık 2023]. Erişim adresi:

<https://www.technologynetworks.com/cancer-research/articles/benign-vs-malignant-tumors-364765>

10. ASCO, What is Cancer? 2020. [Erişim tarihi: 21.09.2023]. Cancer.Net. Erişim adresi: <https://www.cancer.net/navigatingcancer-care/cancer-basics/what-cancer>.
11. Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nature reviews. Cancer*, 2009; 9(4), 239–252.
12. Özkara G, Öztürk O, Yılmaz Aydoğan H. Cancer and Metastasis: Importance of Cell Adhesion Molecules and Cell Junctions. *Experimed*. 2020; 10(1): 38-48.
13. Gerstberger S, Jiang Q, Ganesh K. Metastasis. *Cell*. 2023;186(8): 1564–1579.
14. Seyfried TN, Huysentruyt LC. On the origin of cancer metastasis. *Critical reviews in oncogenesis*. 2013;18(1-2), 43–73.
15. Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nature medicine*. 2013; 19(11): 1423–1437.
16. Suhail Y, Cain MP, Vanaja K, Kurywchak PA, Levchenko A, Kalluri R, Kshitiz Systems Biology of Cancer Metastasis. *Cell systems*, 2019; 9(2), 109–127.
17. Sahai E. Mechanisms of cancer cell invasion. *Current opinion in genetics & development*. 2005; 15(1): 87–96.
18. Memişoğlu, E. Meme Kanserinde Tanı ve Klinik Evreleme. *Meme Kanseri Cerrahisi. Araştırma, Malatya Genel Hastanesi Kliniği*. 2020. p.147-162.
19. ElSharkawy AM. Breast Cancer. In Al-Naggar RA (Ed.), *Principles and Practice of Cancer Prevention and Control*. OMICS Group, 2014, pp. 1-38.
20. Türkiye Kanser İstatistikleri [İnternet]. 2018. [Erişim tarihi 22 Mart 2024]. Erişim adresi:[https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/Dokumanlar/Istatistikler/Kanser\\_Rapor\\_2018.pdf](https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanserdb/Dokumanlar/Istatistikler/Kanser_Rapor_2018.pdf)
21. Kuchenbaecker KB, Hopper JL, Barnes DR, Phillips KA, Mooij TM, RoosBlom MJ, Goldgar DE. Breast, ovarian and contralateral breast cancer risks for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *JAMA*. 2017; 317 (23): 2402-2416.

22. Lee A, Moon BI, Kim TH. BRCA1/BRCA2 Pathogenic Variant Breast Cancer: Treatment and Prevention Strategies. *Annals of Laboratory Medicine*. 2020; 40(2): 114-121.
23. Breast Cancer WHO. [Internet] 2020. [Erişim tarihi: 01.10.2023]. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
24. Costanza P, Daniel FH. Molecular Testing in Breast Cancer, *Annual Review of Medicine*. 2014; 65:1: 95-110.
25. Metzger Filho O, Ignatiadis M, Sotiriou C. Genomic Grade Index: An important tool for assessing breast cancer tumor grade and prognosis. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2011; 77(1): 20–29.
26. Barzaman K, Karami J, Zarei Z, Hosseinzadeh A, Kazemi MH, Moradi-Kalbolandi S, Safari E, Farahmand L. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International immunopharmacology*. 2020; 84: 106535.
27. Vranic S, Gatalica Z, Wang ZY. Update on the molecular profile of the MDA-MB-453 cell line as a model for apocrine breast carcinoma studies. *Oncology letters*. 2011; 2(6): 1131–1137.
28. Harbeck N, Gnant M. Breast cancer. *The Lancet*. 2017; 389(10074): 1134-1150.
29. Sak DS, Perçinel S. Histopathological classification of breast carcinoma: Today and tomorrow *Turkiye Klinikleri J Med Oncol-Special Topics*. 2008; 1(1): 17-22.
30. Tomlinson-Hansen S, Khan M, Cassaro S. *Situ'da Meme Duktal Karsinomu*. Treasure Island: StatPearls Publishing; 2004.
31. Rosen PP. *Rosen's breast pathology: Staging of Breast Carcinoma*. Lippincott Williams/Wilkins: ABD; 2001.
32. Gülben K, Berberoğlu AU. Factors Affecting Survival After Mastectomy in Invasive Lobular Carcinoma of the Breast. *Acta Haematol Oncol Turc*. 2015; 48(3): 124-129.

33. Çulcu S. Memenin İnvaziv Lobuler Karsinomunun Nadir Görülen Geç Periton Metastazı. Ender Anilir Editör. Cerrahi Branşlar İçin Nadir Vakalar. Akademisyen Kitabevi; 2019.
34. Tarhan ÖR. Meme Kanseri Tipleri (Çeşitleri). [Erişim tarihi 23 Mart 2024]. Erişim adresi:<https://www.turkcerrahi.com/makaleler/meme/meme-kanseri/tipleri-cesitleri/>
35. Ergüç İE, Orhan GH. Estrogen-Induced Breast Cancer, Therapeutical Approaches and the Role of Melatonin in Treatment. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy. 2019; 39(2): 113-128.
36. Güneş, EM, Çelik G, Trabulus FD, Aksoy Ş, Özorun E, Aren A, Gücin Z, Bahadır F. Analysis of 47 Patients with Triple Negative (ER, PGR, HER2) Breast Cancer. İstanbul Tıp Dergisi. 2012; 13(4): 166-168.
37. Kashyap D, Pal D, Sharma R, Garg VK, Goel N, Koundal D, Zaguia A, Koundal S, Belay A. Global Increase in Breast Cancer Incidence: Risk Factors and Preventive Measures. Biomed Res Int. 2022; 9605439.
38. GLOBOCAN 2020 New Global Cancer Data [İnternet]. 2020 [Erişim tarihi: 29 Eylül 2023]. Erişim adresi: <https://www.uicc.org/new-global-cancer-data-globocan-2020>
39. Köksal NG. Meme Kanserinde Tarama ve Erken Tanı. Doğu Karadeniz Sağlık Bilimleri Dergisi. 2022; 1(2): 50-56.
40. Cervical Cancer WHO, 2020. [Erişim tarihi: 08 Ekim 2023]. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cervical-cancer>
41. Narisawa-Saito M, Kiyono T. Basic Mechanisms of High-Risk Human Papillomavirus-Induced Carcinogenesis: Roles of E6 and E7 Proteins. Cancer Science. 2007; 98(10): 1505–1511.
42. Bedell SL, Goldstein LS, Goldstein AR, Goldstein AT. Cervical Cancer Screening: Past, Present, and Future, Sexual Medicine Reviews. 2020; 8(1): 28–37.
43. Hull R, Mbele M, Makhafola T, Hicks C, Wang S, Reis RM, et al. Cervical cancer in low and middle-income countries (Review). Oncology Letters. 2020; 20: 2058-2074.

44. Li H, Wu X, Cheng X. Advances in diagnosis and treatment of metastatic cervical cancer. *J Gynecol Oncol*. 2016; 27(4): e43.
45. Zhang S, Xu H, Zhang L, Qiao Y. Cervical cancer: Epidemiology, risk factors and screening. *Chin J Cancer Res*. 2020; 32(6): 720-728.
46. Türk Jinekolojik Onkoloji Derneği [Erişim tarihi: 18 Aralık 2023]. Erişim adresi: <https://www.trsgo.org/files/toplum-icin/rahim-agzi-serviks-kanseri.pdf>
47. Landry JJ, Pyl PT, Rausch T, Zichner T, Tekkedil MM, Stütz AM, Jauch A, Aiyar RS, Pau G, Delhomme N, Gagneur J, Korbel JO, Huber W, Steinmetz LM. The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3 Genes|Genomes|Genetics*. 2013; 3(8): 1213– 1224.
48. Lucey BP, Nelson-Rees WA, Hutchins GM. Henrietta Lacks, HeLa cells, and cell culture contamination. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2009; 133(9): 1463–1467.
49. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71: 209-249.
50. Koç Ö, Baltacı N, Doğan Yüksekol Ö. Kadınların Serviks Kanseri Taraması İnançlarının Hpv Aşısına Yönelik İnançları ile İlişkisi. *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*. 2023; 17(1): 31-41.
51. Özdemir S, Akkaya R, Karaşahin KE. Analysis of community-based studies related with knowledge, awareness, attitude, and behaviors towards HPV and HPV vaccine published in Turkey: A systematic review. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2020; 21(2): 111-123.
52. Fontham ETH, Wolf AMD, Church TR, et al. Cervical cancer screening for individuals at average risk: 2020 guideline update from the American Cancer Society. *CA Cancer J Clin*. 2020; 70: 321-346.
53. Chen W, Zhang X, Molijn A, Jenkins D, Shi JF, Quint W et al. Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: the importance of HPV 16 and 18. *Cancer causes & control*. 2009; 20(9): 1705–1713.

54. Amjad MT, Chidharla A, Kasi A. Cancer Chemotherapy. FL; StatPearls Publishing: 2023.
55. Mian M, Tinelli M, DE March E, Turri G, Meneghini V, Pescosta N et al. Bortezomib, Thalidomide and Lenalidomide: Have They Really Changed the Outcome of Multiple Myeloma. *Anticancer research*, 2016; 36(3): 1059–1065.52.
56. Baykara O. Kanser Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2016; 5(3): 154-165.
57. Tilsed CM, Fisher SA, Nowak AK, Lake RA, Lesterhuis WJ. Cancer chemotherapy: insights into cellular and tumor microenvironmental mechanisms of action. *Frontiers in oncology*. 2022; 12: 960317.
58. Akyolcu N, Özhanlı Y, Kandemir D. Meme Kanserinde Güncel Gelişmeler. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*. 2019; 6 (3): 583-594.
59. Polgár C, Major T, Varga S. A méhnyakrák sugárkezelése és radiokemoterápiája [Radiotherapy and radio-chemotherapy of cervical cancer]. *Magyar onkologia* 2022; 66(4): 307–314.
60. ASCO, 2022. Cancer Terms. [Erişim tarihi: 15.10.2023]. Erişim adresi: <https://www.cancer.net/navigating-cancercare/cancer-basics/cancer-terms>.
61. ASCO, 2022. What is Radiation Therapy?. [Erişim tarihi: 15.10.2023]. Erişim adresi: <https://www.cancer.net/navigating-cancercare/cancer-basics/cancer-terms>.
62. Tokatlı F. Meme Kanseri Tedavisinde Radyoterapi Kemoterapi Etkileşimi, Meme Sağlığı Dergisi. 2008 Cilt: 4 Sayı: 2. [https://cms.eurjbreasthealth.com/Uploads/Article\\_42624/ejbh-4-70-En.pdf](https://cms.eurjbreasthealth.com/Uploads/Article_42624/ejbh-4-70-En.pdf)
63. Yetmen Ö, Aktaş C, Bakkal B H. Serviks kanserinde radyoterapi tedavisinin yeri ve önemi. *Ankara Sağlık Hizmetleri Dergisi*. 2012; 11 (2): 35-40.
64. ASCO, 2023a. What is Cancer Surgery?. [Erişim tarihi: 16.10.2023]. Erişim adresi: <https://www.cancer.net/navigating-cancer-care/how-cancer-treated/surgery/what-cancersurgery#:~:text=Cancer%20surgery%20is%20an%20operation,is%20called%20a%20surgical%20oncologist>.

65. Abraham J, Staffurth J. Hormonal therapy for cancer. *Medicine*. 2011; 39(12): 723-727.
66. ASCO, 2023. What is Hormone Therapy. [Erişim tarihi: 17.10.2023]. Erişim adresi: Cancer.Net. <https://www.cancer.net/navigating-cancer-care/how-cancer-treated/hormone-therapy/what-hormone-therapy>
67. Zhang Y, Zhang Z. The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. *Cellular & molecular immunology*. 2020; 17(8): 807–821.
68. Abbott M, Ustoyev Y. Cancer and the Immune System: The History and Background of Immunotherapy. *Seminars in oncology nursing*. 2019; 35(5): 150923.
69. Maioli C, Mattoteia D, Amin HIM, Minassi A, Caprioglio D. (). Cannabinol: History, Syntheses, and Biological Profile of the Greatest "Minor" Cannabinoid. *Plants*. 2022; 11(21): 2896.
70. Widelski J, Kukula-Koch WA. Chapter 17 - Psychoactive Drugs, Simone Badal, Rupika Delgoda, Editors. *Pharmacognosy*, Academic Press; 2017, pp.363-374,
71. Cherkasova V, Wang B, Gerasymchuk M, Fiselier A, Kovalchuk O, Kovalchuk I. Use of Cannabis and Cannabinoids for Treatment of Cancer. *Cancers*. 2022; 14(20): 5142.
72. Liang Z, Soriano-Castell D, Kepchia D, Duggan BM, Currais A, Schubert D, Maher P. Cannabinol inhibits oxytosis/ferroptosis by directly targeting mitochondria independently of cannabinoid receptors. *Free radical biology & medicine*. 2022; 180: 33–51.
73. Wang B, Li D, Cherkasova V, Gerasymchuk M, Narendran A, Kovalchuk I, Kovalchuk O. Cannabinol Inhibits Cellular Proliferation, Invasion, and Angiogenesis of Neuroblastoma via Novel miR-34a/tRiMetF31/PFKFB3 Axis. *Cancers*. 2022; 14(8): 1908.
74. Muller C, Morales P, Reggio PH. Cannabinoid Ligands Targeting TRP Channels. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2019; 11: 487.

75. Almeida CF, Teixeira N, Correia-da-Silva G, Amaral C. Cannabinoids in Breast Cancer: Differential Susceptibility According to Subtype. *Molecules*. 2021; 27(1): 156.
76. Novak J, Zitterl-Eglseer K, Deans SG, Franz CM. Essential oils of different cultivars of *Cannabis sativa* L. And their antimicrobial activity. *Flavour Fragr*. 2001; 16(4): 259-262.
77. Sampson PB. Phytocannabinoid Pharmacology: Medicinal Properties of Cannabis sativa Constituents Aside from the "Big Two. *Journal of natural products*. 2021; 84(1): 142–160.
78. Sethy C, Kundu CN. 5-Fluorouracil (5-FU) resistance and the new strategy to enhance the sensitivity against cancer: Implication of DNA repair inhibition. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*. 2021; 137: 111285.
79. Mafi A, Rezaee M, Hedayati N, Hogan SD, Reiter RJ, Aarabi MH, Asemi, Z. Melatonin and 5-fluorouracil combination chemotherapy: opportunities and efficacy in cancer therapy. *Cell communication and signaling*. 2023; 21(1): 33.
80. Chauvin A, Bergeron D, Vencic J, Lévesque D, Paquette B, Scott MS, Boisvert FM. Downregulation of KRAB zinc finger proteins in 5-fluorouracil resistant colorectal cancer cells. *BMC cancer*. 2022; 22(1): 363.
81. Çiftçi K. Biyolojik Olarak Parçalanabilen 5- Fluorourasil Mikrokürelerinin Tasarımı ve İn Vitro İn Vivo Değerlendirilmesi [Doktora Tezi]. Ankara Hacettepe Üniversitesi; 1993.
82. Šuleková M, Váhovská L, Hudák A, Ži L, Zeleňák V. A Study of 5- Fluorouracil Desorption from Mesoporous Silica by RP-UHPLC. *Molecules*. 2019; 24(7): 1317.
83. Ibrahim B, Mady OY, Tambuwala, MM, Haggag YA. pH-sensitive nanoparticles containing 5-fluorouracil and leucovorin as an improved anti-cancer option for colon cancer. *Nanomedicine*. 2022; 17(6): 367–381.
84. Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Regolo L, Alvarez-Suarez JM, Quinzi D, Sargenti A, Bai W, Tian L, Giampieri F, Battino M. Manuka honey in combination

- with 5-Fluorouracil decreases physical parameters of colonspheres enriched with cancer stem-like cells and reduces their resistance to apoptosis. *Food chemistry*. 2022; 374: 131753.
85. Longley D, Harkin D, Johnston P. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3: 330–338.
86. Uguz AC, Cig B, Espino J, Bejarano I, Naziroglu M, Rodríguez AB, Pariente JA. Melatonin, sıçan pankreas tümör hücrelerinde kemoterapi kaynaklı sitotoksosite ve apoptozu güçlendirir. *Journal of Pineal Research*. 2012; 53: 91-98.
87. Aybek H, Agca CA, Çiftci M. 5-Fluorourasil (5-FU) ve C60 Nanopartikülünün Meme Kanseri (MCF-7) Hücre Hattı Üzerine Sitotoksik ve Apoptotik Etkilerinin Araştırılması. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*. 2020; 9 (2): 35-41.
88. Alonso H, Bliznyuk AA, Gready JE. Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design. *Medicinal Research Reviews*. 2006; 26(5): 531–568.
89. Forli S, Huey R, Pique ME, Sanner MF, Goodsell DS, Olson AJ. Computational Protein-Ligand Docking and Virtual Drug Screening with the AutoDock Suite. *Nature Protocols*. 2016; 11(5): 905–919.
90. Dar AM, Mir S. Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*. 2017; 08(02): 8– 10.
91. Justus CR, Leffler N, Ruiz-Echevarria M, Yang LV. In vitro cell migration and invasion assays. *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2014; (88): 51046.
92. Young KJ, Dao TTP, Song K, Park SB, Jang H, Park MK, Kim YS. *Annona muricata* Leaf Extract Triggered Intrinsic Apoptotic Pathway to Attenuate Cancerous Features of Triple Negative Breast Cancer MDA-MB231 Cells. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2018; 7972916.
93. Peng M, Huang B, Zhang Q, Fu S, Wang D, Cheng X, Zhang R. Embelin Inhibits Pancreatic Cancer Progression by Directly Inducing Cancer Cell Apoptosis and Indirectly Restricting IL-6 Associated Inflammatory and Immune Suppressive Cells. *Cancer Letters*. 2014; 354(2): 407–416.

94. Foty R. A Simple Hanging Drop Cell Culture Protocol for Generation of 3D Spheroids. *Journal of Visualized Experiments*. 2011; 20(51): 4–7.
95. WebGro, 2021. [Erişim Tarihi: 25 Mayıs 2024]. Erişim adresi: <https://simlab.uams.edu/index.php>
96. Velasco G, Sánchez C, Guzmán M. Towards the use of cannabinoids as antitumour agents. *Nat Rev Cancer*. 2012; 12: 436–444.
97. Schoeman R, Beukes N, Frost C. Cannabinoid Combination Induces Cytoplasmic Vacuolation in MCF-7 Breast Cancer Cells. *Molecules*. 2020; 25(20): 4682.
98. Munson AE, Harriss LS, Friedman MA, Dewey WL, Carchman R.A. Antineoplastic activity of cannabinoids. *Journal of the National Cancer Institute*. 1975; 55(3): 597–602.
99. Pinto B, Henriques AC, Silva MA, Bousbaa H. Three-Dimensional Spheroids as In Vitro Preclinical Models for Cancer Research. *Pharmaceutics*. 2020; 12: 1186.
100. Marcu JP, et al. Cannabidiol enhances the inhibitory effects of delta9-tetrahydrocannabinol on human glioblastoma cell proliferation and survival, *Molecular Cancer Therapeutics*. 2010; 9(1): 180-189.
101. Ruefli-Brasse AA, Lee WP, Hurst S, Dixit VM. Rip2 participates in Bcl10 signaling and T-cell receptor-mediated NF-kappaB activation. *The Journal of biological chemistry*. 2004; 279(2): 1570–1574.
102. Goncharov T, Hedayati S, Mulvihill MM, Izrael-Tomasevic A, Zobel K, Jeet S, Fedorova AV, Eidenschenk C, deVoss J, Yu K, Shaw AS, Kirkpatrick DS, Fairbrother WJ, Deshayes K, Vucic D. Disruption of XIAP-RIP2 Association Blocks NOD2-Mediated Inflammatory Signaling. *Molecular cell*. 2018; 69(4): 551–565.
103. Zhao Y, Alonso C, Ballester I, Song JH, Chang SY, Guleng B, Arihiro S, Murray PJ, Xavier R, Kobayashi KS, Reinecker HC. Control of NOD2 and Rip2-dependent innate immune activation by GEF-H1. *Inflammatory bowel diseases*. 2012; 18(4): 603–612.

- 104.NCBI, 2024 RIPK2 Gene. [Erişim Tarihi: 05 Ağustos 2024]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/8767#reference-sequences>
- 105.Lamtha T, Tabtimmai L, Songtawee N, Tansakul N, Choowongkomon K. Structural analysis of cannabinoids against EGFR-TK leads a novel target against EGFR-driven cell lines. *Current research in pharmacology and drug discovery*. 2022; 3: 100132.
- 106.National Cancer Institute. Surgery to Treat Cancer[Internet]. 2015[Erişim tarihi: 16.10.2023]. Erişim adresi: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/surgery>
- 107.Pertwee RG. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *British journal of pharmacology*. 2006; 147 Suppl 1(Suppl 1): 163–171.
- 108.You J, Wang Y, Chen H, Jin F. RIPK2: a promising target for cancer treatment. *Frontiers in pharmacology*. 2023; 14, 1192970.
- 109.SEER Eğitim Modülleri. ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri, Ulusal Kanser Enstitüsü [Internet]. 2023 [Erişim tarihi: 20.09.2023]. Erişim adresi: <https://training.seer.cancer.gov/>
- 110.Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving The Speed and Accuracy of Docking with A New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2009; 31(2): 455–461.

## ÖZGEÇMİŞ

<b>KİŞİSEL BİLGİLER</b>	
<b>Adı Soyadı:</b>	Melike ERDURAN
<b>Doğum Yeri</b>	Ankara
<b>Uyruğu:</b>	T.C.
<b>Orcid Numarası:</b>	0000-0003-0887-2367

<b>EĞİTİM BİLGİLERİ</b>	
<b>Lisans</b>	
<b>Üniversite:</b>	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
<b>Fakülte:</b>	Fen Edebiyat Fakültesi
<b>Bölümü:</b>	Moleküler Biyoloji ve Genetik
<b>Mezuniyet Yılı:</b>	2021

<b>Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler</b>
<b>Uluslararası Konferans ve Sempozyumlarda Sunulan Bildiriler</b> IX-International European Conference On Interdisciplinary Scientific Research January 19-21, 2024 / Valencia, Spain. ISBN: 978-625-367-634-6
<b>Yazılan Makaleler, Kitap Bölümleri ve Bildiriler</b>

Erduran, M., Çankaya, N., Yalcin, S. (2024). Biobased Nanomaterials in Drug Delivery. In: Ahmed, S. (eds) Biobased Nanomaterials. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-97-0542-9\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-97-0542-9_7)

“Türkiye’nin İç Anadolu Bölgesinden Elde Edilen *Inula Helenium* Bitkisinin İlaç Dirençli Meme Kanseri Hücre Hatlarında Sitotoksik, Metastatik Etkisinin 2D ve 3D Model Hücre Hatları Üzerinde Araştırılması” Usbilim 1. Sağlık, Farmakoloji ve Veterinerlik Kongresi, 2021

“Kannabinol ve 5-Fluorourasil’in MDA-MB-453 ve HeLa Hücre Hatları Üzerindeki Sitotoksik Etkisinin Araştırılması ve Moleküler Kenetleme Çalışmaları” IX-Uluslararası Avrupa Konferansı Disiplinler arası Bilimsel Araştırmalar Hakkında Kongre, 2024

“Cisplatin ve L-Triiodotironin Sodyum’un Meme Kanseri Hücre Hatlarındaki Sitotoksik Etkisinin Araştırılması” International Congress Of New Horizons In Sciences Proceedings Book, 2023.

“Doksorubisin ve Kampesterol Yüklü Manyetik Nanoparçacıkların Meme Kanseri Üzerindeki Etkisinin Araştırılması” International Congress Of New Horizons In Sciences Proceedings Book, 2023.

“Meme Kanseri Tedavisinde Biyofilm Bazlı Nanoparçacık Taşıma Sistemlerinin Geliştirilmesi” International Congress Of New Horizons In Sciences Proceedings Book, 2023.