

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Gözde Öğütçü

## TEŞEKKÜRLER

Yüksek Lisans öğrenimim ve tez dönemim süresince bana her zaman, her konuda desteğini aynı zamanda bilgilerini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan onur ve gurur duyduğum çok değerli danışman hocam Sayın Prof.Dr. Aysel Kükner'e büyük teşekkürü bir borç bilirim.

Yine hem lisans hem de yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerini esirgemeyen ve tez çalışmam süresince büyük desteğini sağlayan sevgili hocam Sayın Doç.Dr. Pınar Tulay'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam için bize madde desteğini sağlayan Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof.Dr. İhsan Çalış'a yardımları için çok teşekkür ederim.

Yakın doğu üniversitesi Histoloji & Embriyoloji bölümünün bana kazandırdığı güzel insan sevgili Öğretim Üyesi Pelin Toros'a iki yıl boyunca arkadaşım dert ortağım olarak desteğini esirgemediği için teşekkür ederim. Aynı zamanda bir diğer tez çalışmam boyunca laboratuvar bilgilerini benden esirgmeden paylaşan sevgili arkadaşım DESAM Hücre Kültürü Laboratuvar sorumlusu Nadire Kıyak Özoktaş'a desteği ve yardımları için teşekkür ederim.

Ve son olarak en büyük teşekkürü etmek istediğim güzel ailem, canım babam, canım annem ve biricik ablama maddi ve manevi bütün destekleri ve her zaman her şartta yanımda olduklarını hissettirdikleri için teşekkür ederim, iyiki benim ailemsiniz.

## İÇİNDEKİLER

0. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
1. GENEL BİLGİLER .....	3
1.1 Kanser.....	3
1.2 Kanser risk faktörleri.....	3
1.3 Kanser türleri.....	7
1.4 Tanı ve tedavi.....	8
1.5 Kanser Tedavisinde Destek Tedaviler (Fitoterapi).....	10
2. MEME KANSERİ.....	12
2.1 Meme Kanserinin Histolojik Sınıflaması.....	13
2.2 Meme Kanseri Risk Faktörleri.....	16
2.3 MemeKanserinde Tanı Yöntemleri.....	17
2.4 Meme Kanserinde Tedavi Yöntemleri.....	17
3. MEME KANSERİ HÜCRE SERİLERİ.....	20
4. <i>ASTRAGALUS</i> BİTKİSİ.....	21
4.1 <i>Astragalus</i> türlerinin biyolojik aktiviteleri.....	23
4.2 Saponinler.....	27
4.3 Astragaloside IV, Cyclocanthoside E, Astrasieversianin X, Macrophylosaponin D, Macrophylosaponin B.....	28
4.4 Bileşiklerin Yapıları.....	30
5. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
5.1 Kullanılan Kimyasallar.....	31
5.2 Kullanılan Kitler .....	31
5.3 Kullanılan Araçlar .....	32
5.4 Kullanılan Bitki Ekstraktı.....	33
5.5 Kullanılan Meme Kanseri Hücre Serileri.....	33
5.6 DENEY DÜZENİĞİNİN OLUŞTURULMASI.....	33
5.6.1 Hücrelerin Çözdürülmesi.....	33
5.6.2 Hücrelerin Pasajlanması.....	34
5.6.4 Hücrelerin Dondurulması.....	35
5.6.3 Hücrelerin Sayılması Ve Canlılık Kontrolü.....	35
5.6.5 <i>Astragalus</i> Saponin Ekstraktlarının Dozunun Belirlenmesi.....	36

5.6.6 Hücre canlılığı / sitotoksosite aktivitesi ölçümü.....	36
5.6.7 Tünel Yöntemi İle Apoptoz Tespiti.....	37
5.6.8 Hücrelerin fiksasyonu ve boyama prosedürü.....	37
5.6.8 İstatistiksel analiz.....	38
<b>6. BULGULAR.....</b>	<b>39</b>
6.1 MDA-MB-231 Hücre Serilerinde Sitotoksosite Sonuçları.....	39
6.2 MCF-7 Hücre Serilerinde Sitotoksosite Sonuçları.....	44
6.3 MCF-7 Ve MDA-MB-231 Hücrelerinde Tünel Analizi İle Apoptozun Tespiti.....	49
<b>7. TARTIŞMA.....</b>	<b>54</b>
<b>8. KAYNAKLAR.....</b>	<b>59</b>

## **KISALTMALAR**

<b>DSÖ:</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>MCF-7:</b>	Michigan Cancer Foundation-7
<b>MDA-MB-231:</b>	Breast cancer cell line isolated by M. D. Anderson
<b>BRCA 1-2:</b>	Breast Cancer 1-2
<b>HER-2:</b>	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
<b>DNA:</b>	Deoxyribonucleic Acid
<b>UV:</b>	Ultraviolet
<b>EGCG:</b>	Epigallocatechin Gallate
<b>GLOBOCAN:</b>	The Global Cancer Observatory
<b>LCIS:</b>	Lobüler Karsinoma İn Situ
<b>IDC:</b>	İnvazif duktal karsinom
<b>NST:</b>	National Cancer Institute
<b>ER:</b>	Estrogen Receptor
<b>PR:</b>	Progesteron
<b>NO:</b>	Nitrik Oksit
<b>NOS:</b>	Nitrik Oksit Sentaz
<b>IL:</b>	Interlökin
<b>TNF:</b>	Tümör Nekroz Faktörü-A
<b>AD:</b>	Atopik Dermatit

<b>TGF:</b>	Dönüştürücü Büyüme Faktörü
<b>IgM:</b>	Immunoglobulin M
<b>AST:</b>	<i>Astragalus membranaceus</i>
<b>T1DM:</b>	Tip 1 Diyabet
<b>IgG:</b>	Immunoglobulin G
<b>IFN:</b>	Interferon
<b>T2DM:</b>	Tip 2 Diyabet
<b>AGE:</b>	Gelişmiş Glikozilasyon Son Ürünleri
<b>CCK-8:</b>	Cell Counting Kit 8
<b>TdT:</b>	Uç Deoksinükleotidil Transferaz
<b>MR:</b>	Manyetik Rezonans

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1:</b> Kanserin patofizyolojisi.....	6
<b>Şekil 2:</b> Meme kanseri alt tipleri.....	15
<b>Şekil 3a:</b> MDA-MB-231 meme kanseri hücre serisi.....	21
<b>Şekil 3b:</b> MCF-7 meme kanseri hücre serisi.....	21
<b>Şekil 4:</b> <i>Astragalus Oleifolius</i> .....	22
<b>Şekil 5a:</b> MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 24saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü.....	43
<b>Şekil 5b:</b> MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine Cyclocanthoside E maddesi uygulanmasından 24 saat sonraki mikroskopik görüntüsü .....	43
<b>Şekil 6a:</b> MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü.....	43
<b>Şekil 6b:</b> MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine Astragaloside IV maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü.....	43
<b>Şekil 7a:</b> MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü.....	43
<b>Şekil 7b:</b> MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine Astrasieversianin X maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü.....	43
<b>Şekil 8a:</b> MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü.....	48
<b>Şekil 8b:</b> MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine Astrasieversianin X maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü.....	48
<b>Şekil 9a:</b> MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü.....	48
<b>Şekil 9b:</b> MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine Cyclocanthoside E maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü.....	48
<b>Şekil 10a:</b> MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü.....	48

<b>Şekil 10b:</b> MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine Astragaloside X maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü.....	48
<b>Şekil 11:</b> Kontrol grubuna ait MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	50
<b>Şekil 12:</b> Cyclocanthoside E verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	50
<b>Şekil 13:</b> Astragaloside IV verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	50
<b>Şekil 14:</b> Astrasieversianin X verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	51
<b>Şekil 15:</b> Macrophylosaponin D verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	51
<b>Şekil 16:</b> MacrophylosaponinB verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	51
<b>Şekil 17:</b> Kontrol grubuna ait MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	52
<b>Şekil 18:</b> Macrophylosaponin D verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	52
<b>Şekil 19:</b> Macrophylosaponin B verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	52
<b>Şekil 20:</b> Astragaloside IV verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	53
<b>Şekil 21:</b> Astrosieversianin X verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	53
<b>Şekil 22:</b> Cyclocanthoside E verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu.....	53



## **TABLULAR**

Tablo 1: Kansere Türleri.....	7
Tablo 2: Bitkisel İlaçların Anti-Kanser Aktiviteleri.....	11
Tablo 3: Sikloartan-tipi saponinler.....	29

## GRAFİKLER

- Grafik 1:** MDA-MB-231 hücre serisinde cycloanthoside E maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....40
- Grafik 2:** MDA-MB-231 hücre serisinde astragaloside IV maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....40
- Grafik 3:** MDA-MB-231 hücre serisinde astrasieversianin X maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....41
- Grafik 4:**MDA-MB-231 hücre serisinde macrophylosaponin-D maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....41
- Grafik 5:** MDA-MB-231 hücre serisinde macrophylosaponin-B maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....43
- Grafik 6:** MCF-7 hücre serisinde cycloanthoside E maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....45
- Grafik 7:** MCF hücre serisinde astragaloside IV maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....45
- Grafik 8:** MCF-7 hücre serisinde macrophylosaponin-D maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....46
- Grafik 9:** MCF-7 hücre serisinde astrasieversianin X maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....46
- Grafik 10:** MCF-7 hücre serisinde macrophylosaponin-B maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu.....47

## ÖZET

***Astragalus* türlerinden elde edilen sikloartan tipi saponinlerin MCF-7 ve MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerindeki proliferasyonu üzerine etkisi**

Gözde Ögütçü

Danışmanlar: Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı- Prof.Dr. Aysel Kükner

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı- Prof.Dr. Pınar Tulay

**AMAÇ:** Bu çalışmanın amacı, *Astragalus* türlerinden elde edilen saponinlerin MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre serilerinin proliferasyonu üzerindeki etkisini ve *Astragalus* türlerinde bulunan biyoaktif bileşiklerin sitotoksik etkilerini değerlendirmektir.

**ÇALIŞMA PLANI:** *Astragalus* türlerinden saponinlerin meme kanseri hücre hatları, MCF-7 ve MDA-MB-2321 üzerindeki potansiyel antikanser etkileri, TEBU-BIO hücre sayma kiti 8, hücre apoptozisi, apoptoz saptama kiti, Apoptag Plus Peroxidase In Situ, ABD, kullanılarak değerlendirildi.

**BULGULAR:** MCF-7 hücreleri, farklı konsantrasyonlarda *Astragalus* saponinleri (10 uM, 100 uM, 150 uM, 200 uM) ile muamele edildi ve 24s, 48s ve 72 saat maruz kaldıktan sonra absorbans yüzdeleri ölçüldü. 48 saat için, tüm konsantrasyonlarda (10 µM, 100 µM, 150 µM, 200 µM) anlamlı fark gözlemlendi. 72 saat de ise 100 µM konsantrasyonda anlamlı bir fark bulundu. MDA-MB-231 hücreleri, farklı konsantrasyonlarda *Astragalus* saponinleri (10 uM, 100 uM, 150 uM, 200 uM) ile muamele edildi ve 24s, 48s ve 72 saat maruz kaldıktan sonra absorbans yüzdeleri ölçüldü. 24 saat için, 10 µM, 100 µM ve 200 µM konsantrasyonlarda anlamlı değişiklik kabul edildi. 48 saat için, 100 µM ve 150 µM konsantrasyonlarda anlamlı değişiklik kabul edildi. 72 saat için ise, 10 µM ve 100 µM konsantrasyonlarda anlamlı değişiklik kabul edildi. MCF-7 hücrelerinde ve MDA-MB-231 hücrelerinde tünel boyama ile apoptoz tespiti yapıldı. MCF-7 hücrelerinde tüm saponinlerden elde edilen p değerleri kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark olduğunu ve MDA-MB-231 hücrelerinde bulunan saponin (astrasieversianin X)'in p değeri kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gösterdi.

**SONUÇ:** Yapılan çalışma, *Astragalus* türlerinden elde edilen saponinlerin, önemli ölçüde MCF-7 meme kanseri hücre serisinde ve ayrıca MDA-MB-231 hücre serisinde, anti-proliferatif ve anti-apoptotik etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Meme Kanseri, Sitotoksiste, *Astragalus* Saponinleri, MCF-7, MDA-MB-231

## ABSTRACT

**The effect of Cycloartane-type of saponins from *Astragalus species* on the proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells.**

Gözde Ögütçü

Supervisors: Prof.Dr. Aysel Kükner- Department of Histology and Embryology

Prof.Dr. Pınar Tulay- Department of Medical Genetics

**AIM:** The aim of this study was to evaluate the effect of saponins from *Astragalus species* on the proliferation of MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cell lines. The study's main objectives were to evaluate the cytotoxic effects of bioactive compounds which present in *Astragalus species*.

**METHODS:** The potential anticancer effects of saponins from *Astragalus species* on breast cancer cell lines, MCF-7 and MDA-MB-2321, using TEBU-BIO cell counting kit 8. Cell apoptosis was evaluated by using Apoptosis detection kit, Apoptag Plus Peroxidase In Situ, USA.

**RESULTS:** MCF-7 cells were treated with different concentrations of *Astragalus* saponins (10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, 150  $\mu$ M, 200  $\mu$ M) and absorbancy percentages were measured after 24h, 48h and 72 hours of exposure. There were significant differences between means when compared in control group, for 48 hours there were significant difference at all concentrations (10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, 150  $\mu$ M, 200  $\mu$ M) and a significant difference was found at 100  $\mu$ M concentration at 72 hours. MDA-MB-231 cells were treated with different concentrations of *Astragalus* saponins (10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, 150  $\mu$ M, 200  $\mu$ M) and absorbancy percentages were measured after 24h, 48h and 72 hours of exposure. There were significant differences between means when compared in control group, at concentrations of 10  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, and 200  $\mu$ M for 24 hours, at concentrations of 100  $\mu$ M and 150  $\mu$ M for 48 hours, at 10  $\mu$ M and 100  $\mu$ M concentrations for 72 hours. Detection of apoptosis via tunnel method in MCF-7 cells and MDA-MB-231 cells the results showed that there was a significant difference when the p values obtained from all saponins in MCF-7 cells, were compared with the control and there was a significant difference when the p value of the only saponin (astrasieversianin X) in MDA-MB-231 cells, was compared with the control.

**CONCLUSION:** The current study demonstrates that the saponins from *Astragalus species* have an anti-proliferative and anti-apoptotic effects importantly in MCF-7 breast cancer cell line and also in MDA-MB-231 cell line.

**KEYWORDS:** Breast Cancer, Cytotoxicity, *Astragalus* Saponins, MCF-7, MDA-MB-231





## 0. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, vücuttaki bir grup hücrenin kontrolsüz ve anormal bir şekilde büyüyüp çoğalmasına bağlı ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu oluşan tümör adı verilen hastalık bağışıklık sistemine zarar verip ölümcül olabilecek diğer bozukluklara yol açmaktadır. Mevcut kanser tedavisinde uygulanan, cerrahi müdahale, radyasyon ve kemoterapötik ilaçlarının kullanımı hastalarda toksisiteye neden olmakta ve sağlıklı hücreleri de öldürmektedir. Bu nedenle de günümüzde araştırmacılar sağlıklı hücreleri koruyup sadece kanserli hücreleri ortadan kaldırmak için çalışmalar yapmaktadır.

Meme kanseri dünya çapında önemli bir sağlık problemidir. Kadınlar arasında kansere bağlı ölüm sıralamasında meme kanseri ikinci sırada yer almaktadır (Ergin A. Ve ark 2019). DSÖ 2020 verilerine göre dünyada en sık görülen kanser türünün yaklaşık %12'lik bir oranla meme kanseri olduğu açıklanmıştır. KKTC'de 2012-2016 yılları arasında yapılan istatistiksel çalışmalar sonucunda kadınlarda en sık en sık görülen kanser tipleri sıralamasında meme kanseri ilk sırada yer alırken erkeklerde prostat kanseri ilk sırada yer almaktadır (2012-2016 KKTC Kanser İstatistikleri, <http://saglik.gov.ct.tr/>, 06.04.2021).

Bazı gıda veya biyoaktif bileşiklerin kullanımı, hastalık seyrini olumlu yönde desteklemekte, meme kanseri hastalarının yaşam kalitesini artırabilecek fizyolojik değişiklikleri ortaya çıkarmaktadır (Shirode AB ve ark 2015, Teoh PL ve ark 2019).

*Astragalus* L., Leguminosae familyasındaki en büyük çiçekli bitki cinslerinden biridir. Cinsin Türkiye florasında yaklaşık 440 tür ile temsil edildiği tahmin edilmektedir ve ılıman ve kurak bölgelerde yaygın olarak dağılmıştır (Dönmez ve ark 2018). Farmakolojik çalışmalarda, *Astragalus*'un ham ekstreleri ve izole edilmiş bileşenleri, anti inflamatuvar, immünoestimulan, antioksidatif, antikanser, antidiyabetik, kardiyoprotektif ve antiviral aktiviteler göstermiştir. Sikloartanel türevi saponinler, flavonoitler ve polisakkaritler *Astragalus*'un aktif bileşenleridir ve ayrıca alkaloidler, amino asitler,  $\beta$ -sitosterol gibi diğer elementleri de içerir (Li ve ark 2014).

Saponinler, aynı zamanda triterpenoid glikozitler olarak da bilinir, Doğal veya sentetik formda farmasötik veya nutrasötik ajanlar olarak önemli bir potansiyele sahip olup birçok bitkide doğal olarak bulunan biyoaktif bileşiklerdir (AV Rao ve ark 2000). Hemen hemen tüm saponinler tümör hücrelerinde apoptozu indükler; kanser tedavisi için tercih edilen ilaçlardır, çünkü tümör hücrelerini apoptoz ile ortadan kaldırmak, nekrozdaki kaçınarak hastalarda yan etkileri azaltmaya yardımcı olur (Man ve ark 2010).

Bu çalışmada *Astragalus* türlerinden elde edilen ve meme kanserindeki etkileri çalışılmamış olan saponinlerin farklı dozları meme kanseri hücre serilerine uygulanarak proliferasyon, sitotoksik ve apoptotik etkilerinin araştırılması amaçlanmaktadır.



## **1. GENEL BİLGİLER**

### **1.1 KANSER**

Kanser dünya çapında büyük oranda ölüme sonuçlanan önce gelen sağlık sorunudur. DSÖ (Dünya Sağlık Örgütü)'den elde edilen saonuçlara göre 2020'de yaklaşık olarak 10,0 milyon ölüme sebebiyet vermiştir. Günümüzde insanları etkileyen birçok kanser türü görülmektedir. En sık rastalanan kanser türlerini, akciğer (2.09 milyon vaka), meme (2.09 milyon vaka), kolorektal (1.80 milyon vaka), prostat (1.28 milyon vaka), deri (1.04 milyon vaka), mide (1.03 milyon vaka) oluşturmaktadır (Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı (IARC), <https://www.iarc.who.int/>, 15.12.2020).

Kanser hücrelerin anormal büyümesi sonucu meydana gelmektedir ve bitişik hücrelere, organlara veya vücudun diğer kısımlarına yayılma potansiyeli göstermektedir (WANG ve ark 2018). Genetik bozukluklar, sağlıksız beslenme alışkanlıkları, radyasyona maruz kalma veya toksin alımı, enfeksiyonlardan veya iltihaplardan kaynaklanabilmektedir.

### **1.2 KANSER RİSK FAKTÖRLERİ**

#### **Genetik Mutasyonlar**

Kansere neden olan belirli gen türlerinin keşfi, kanser araştırmaları için önemli bir gelişme olmuştur. Bir hücredeki, bir veya daha fazla gen, mutasyona uğradığında kanser oluşumu gerçekleşmektedir. Mutasyon gende oluşan değişiklik olarak tanımlanmaktadır ve anormal bir protein yapısı oluşturmaktadır veya oluşumunu engellemektedir. Oluşan anormal yapı hücreye farklı bilgiler sağlar ve hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalmasına ve kanserli hale gelmesine neden olmaktadır. Mutasyon gen üzerinde olduğu yere göre faydalı veya zararlı olarak nitelendirilebilmektedir. Tek bir mutasyon genellikle kansere neden olmamakla birlikte yaşam boyunca meydana gelen birden çok mutasyon kanserle sonuçlanmaktadır. Onkogen ve tümör baskılayıcı genler, hücre büyümesini etkiler ve belirli kanser türlerinde değişerek mutasyona uğramaktadır (Pazarbaşı ve Kasap 2003). Tümör

baskılayıcı genler koruyucu genler olarak bilinir ve hücre büyümesini durdurur. Bu genlerde oluşan mutasyon sonucu ise hücreler kontrolsüz çoğalarak tümör oluşumuna sebebiyet vermektedir. Mutasyonların kansere yol açtığı genlerin örnekleri olan, BReast CAncer 1(*BRCA1*) ve BReast CAncer 2(*BRCA2*) genleri kadınlarda kalıtsal göğüs ve yumurtalık kanserini geliştirme riskini artırmaktadır (Welch ve King 2001). P53 insan kanserlerinde bulunan en sık mutasyona uğramış gen dir (Olivier ve ark 2010). Bu mutant *p53* geni,yaşadıkları hücrelerde yüksek seviyelerde birikerek onkojenik etkilere neden olmak üzere, transkripsiyonel değişikliklere neden olmaktadır (Neil ve ark. 2017).

Onkogenler ise sağlıklı hücreleri kanserli hücrelere dönüştürebilmektedir. Human Epidermal growth factor Receptor-2 (*HER-2*) protoonkogeni aktive edici mutasyonlar, birçok kanser türünde kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılımını kontrol etmektedir. *HER2* mutasyonlarının en yüksek prevalansına sahip histolojiyi mesane kanseri(% 9-18) temsil eder, bunu uterin (% 6), kolorektal (% 5,8), akciğer (% 4) ve meme (%4) kanseri izlemektedir (Cocco ve ark 2019). *RAS* protoonkogenleri onkogenezde önemli rol oynamaktadır. *RAS* genlerinin hücre büyümesi, farklılaşması ve hayatta kalması dahil birçok hücre sel süreci düzenlediği gösterilmiştir. Nokta mutasyonları *RAS* aktivitesini artırmakla birlikte, yumurtalık, akciğer skuamöz hücre, uterin, adrenokortikal ve özofagus tümörlerinde sıklıkla amplifiye olmaktadır (Stephens ve ark 2017).

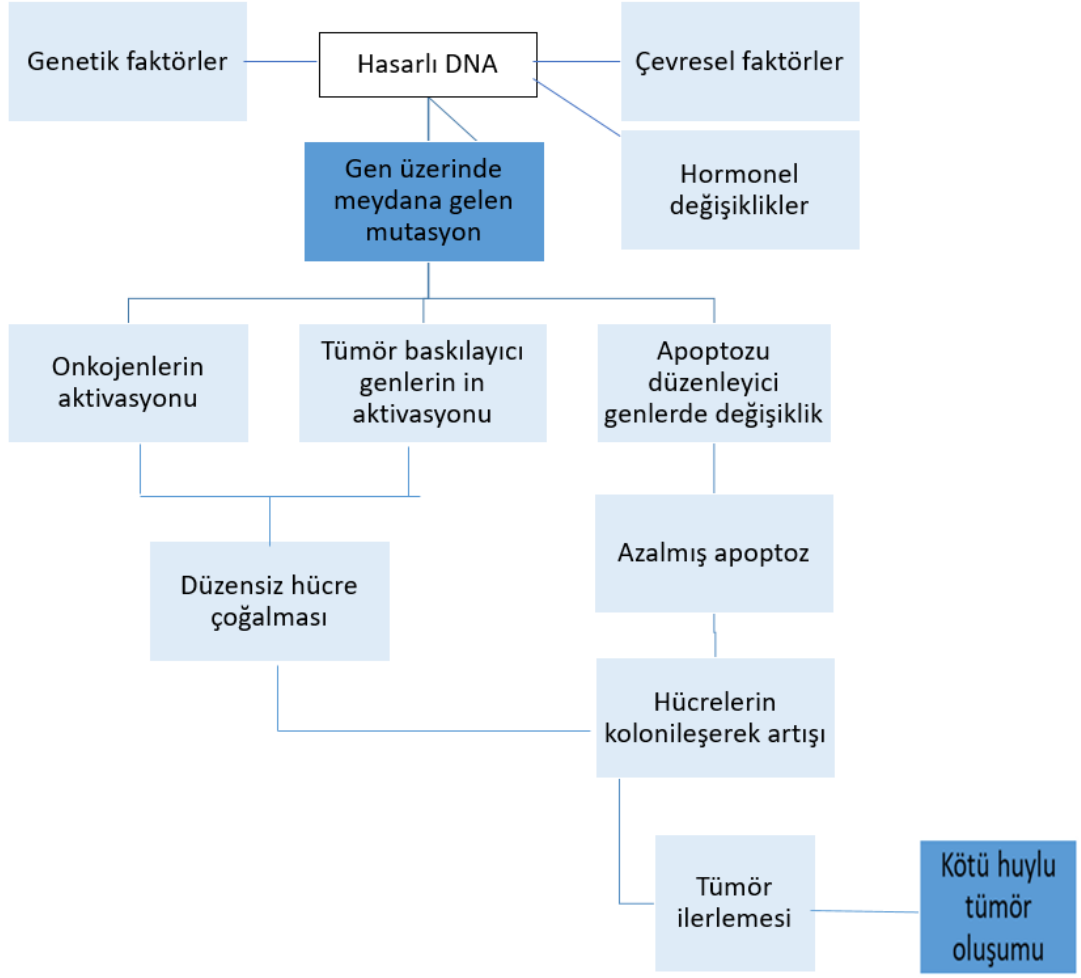
### **Çevresel Faktörler**

Kansere neden olabilecek her madde kanserojen olarak tanımlanmaktadır ve bu maddelerin vücutta birikmesi hücrelere hasar verip kanser hücrelerinin büyümesine neden olmaktadır. Başta yanlış beslenme, sigara kullanımı, fiziksel aktivite eksikliği gibi yaşam tarzı faktörleri DNA'mıza ya zarar vererek tümör oluşuna neden olmaktadır (Şekil 1). Yapılan bir çalışmada sigara kullanımı ile akciğer kanseri oluşumu riski değerlendirilmiş ve daha önce hiç sigara içmeyenler ile düzenli sigara kullanan kadın ve erkek grupları arası araştırma yapılmıştır. Sonuçta ise sigara içmenin kadın ve erkek grupları arasında aynı oranda akciğer kanseri ile güçlü bir şekilde ilişkisi ortaya konmuştur (O'Keeffe ve ark 2018). Aynı zamanda sigara kullanımının

baş ve boyun, yemek borusu, mide, serviks ve mesane kanseri için bir risk faktörü olabildiği bir başka çalışma ile kanıtlanmıştır (Larsson ve ark 2020).

Ultraviyole ışık bir başka önemli çevresel faktör olarak kanser oluşumunda rol oynamaktadır. Melanom, genetik olarak güneş ışığına veya yapay kaynaklara duyarlı bireylerin, ultraviyole ışınlarına maruz kalmasıyla ilişkilidir (Noonan ve ark 2012). Ultraviyole radyasyonunun DNA ve gen mutasyonlarının hasarından sorumlu olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. UV radyasyonu sağlıklı hücreleri kanser hücrelerine dönüştüren mutasyonlara neden olup deri kanseri oluşuna neden olmaktadır. (Laikova ve ark 2019).

Sentetik kimyasallara maruz kalma kansere sebebiyet veren bir başka risk faktörü grubudur. Dış kaynaklı kimyasallar insan hayatını olumsuz etkileyip kansere neden olmaktadır. DSÖ raporuna göre kanserlerin yaklaşık % 1.5-2'si çevredeki kimyasallara bağlı oluşmaktadır. Yapılan çalışmada çocukluk ağı kanserlerinin yaklaşık % 5'inin de çevresel olarak kirletici maddelere maruz kalmasından kaynaklandığı gösterilmiş ve çocukların bu maddelere maruziyetinin mümkün olduğunca sınırlandırılması gerektiği belirtilmiştir (Roberts ve ark 2012).



Şekil 1: Kanserin patofizyolojisi (National Cancer Institute)

### 1.3 KANSER TÜRLERİ

Kanserin vücutta ortaya çıktığı hücre tipine göre kanser türleri sınıflandırılmaktadır (Tablo 1).

Kanser türü	Oluştığı hücre	Çeşiti
Karsinom	Vücudun iç ve dış yüzeylerini kaplayan epitel hücreleri	Adenokarsinom, sıvı veya mukus üreten epitel hücrelerinde oluşur Bazal hücreli karsinom, insan cildinin dış katmanı olan epidermin alt veya bazal (taban) tabakasından başlar Skvamöz hücreli karsinom, cildin dış yüzeyinin hemen altında bulunan epitel hücreleri olan skuamöz hücrelerde oluşur Transizyonel hücreli karsinom, transizyonel epitelyum veya ürotelyum olarak adlandırılan bir epitel dokusu türünde oluşur
Sarkom	Kas, yağ, kan damarları, lenf damarları ve fibröz doku da dâhil olmak üzere kemik ve yumuşak dokular	Osteosarkom en yaygın kemik kanseridir. leiomyosarkom, Kaposi sarkomu, liposarkom en yaygın yumuşak doku sarkomlarıdır
Lösemi	Kemik iliğinin kanı oluşturan dokusunda meydana gelen kanserler	hastalığın kötüleşme hızına göre akut veya kronik ve kanserin başladığı kan hücresinin türüne göre lenfoblastik veya myeloid olarak sınıflandırılmaktadır
Lenfoma	T hücreleri ve B hücreleri olmak üzere lenfositler	Hodgkin lymphoma genellikle B lenfositlerden, Hodgkin olmayan lenfoma ise B veya T lenfositlerden kaynaklanmaktadır
Multiple Myelom	bir bağışıklık hücresi olan plazma hücrelerinin aşırı artışı sonucu bir çeşit kemik iliği kanseridir	Önemi belirsiz monoklonal gamopati (MGUS), anormal plazma hücreleri aynı antikordan gereğinden fazla üretir fakat tümör oluşturmaz. Asemptomatik Myelom Semptomatik Myelom

Melanom	Melanini üreten özelleşmiş hücreler olan melanositlere dönüşen hücreler	Melanomların çoğu ciltte oluşur fakat göz gibi diğer pigmentli dokularda da meydana gelebilirler
Germ hücreli tümörler	sperm veya yumurtaya özelleşen hücreler	Testis germ hücre tümörleri Yumurtalık germ hücre tümörleri
Nöroendokrin Tümörler	sinir sisteminden gelen bir sinyale cevaben kan içerisine hormon salan hücreler	Karsinoid tümörler, genelde gastrointestinal sistemde sıklıkla rektumda ve ince bağırsakta bulunurlar

**Tablo 1: Kanser Türleri (National Cancer Institute)**

#### 1.4 TANI VE TEDAVİ

Tümörler gelişimin erken aşamalarında genellikle herhangi bir belirti göstermemektedir. Ancak erken tespit edilen kanserin tedaviye etkili yanıt verme ve kişinin hayatta kalma olasılığının daha yüksek olduğu bilinmektedir. Kanser erken tespit edilmesinde, kanser hastasının farkındalığı, düzenli klinik ve kişisel kontrollerin yapılması önemli bir avantaj sağlamaktadır (Guide To Cancer Early Diagnosis, World Health Organization, ISBN 978-92-4-151194-0, 2017).

Kanser tanısında, tarama programları herhangi bir belirti geliştirmemiş, belirli bir kanser veya kanseri düşündüren anormallikleri olan bireyleri tespit etmeyi ve onları derhal teşhis ve tedavi için yönlendirmeyi amaçlamaktadır. Kanser teşhisinin doğruluğu etkili tedavi için önemli rol oynamaktadır. Çünkü her kanser türü kendine özel, cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi gibi tedavi planlaması gerektirmektedir (Loud ve ark 2017).

Hastanın yaşam kalitesini artırarak kanseri iyileştirmek veya yaşamı önemli ölçüde uzatmak kanser tedavisinde birincil amacı oluşturmaktadır. Kanser tedavisi, kanserin türüne, evresine, bulunduğu lokasyona, hastanın metabolizmasına ve ayrıca hastanın maddi imkanlarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Genel olarak tümörü

ortadan kaldırmaya veya büyümesini yavaşlatmaya yönelik tedaviler, ameliyat, radyasyon tedavisi, kemoterapi, hormon tedavisi veya immünoterapi ve bunların kombinasyonu olarak planlanmaktadır.

Kemoterapi kanser hücrelerinin, ilaçla tedavi şeklini oluşturmaktadır. Kanser hastalarına çeşitli ilaç grupları damar yoluyla veya oral yolla verilmektedir. Cerrahi, kanser tedavisinin en eski ve en temel tedavi yöntemidir. Solid tümör dokularında en etkili tercih edilen yöntemdir. Cerrahi yöntem ile birlikte radyasyon ve kemoterapi kullanımı tedavi şansını artırmaktadır (Arruebo ve ark 2011).

Radyasyon tedavisinde X-ray ışınları kullanılarak kanser hücrelerini ortadan kaldırmak amaçlanmaktadır. Kanser hücreleri sürekli çoğalma yeteneklerinden dolayı radyasyona daha duyarlıdır, bu da her zaman çoğalmayan normal hücrelere göre radyasyon hasarından daha az kurtulmalarını sağlamaktadır (Baykara 2016).

İmmünoterapi yönteminde, tümör hücrelerinin dış yüzeyinde bulunan antijenler aracılığıyla kanserle savaşmak için vücudun savunma sistemi olan bağışıklık sisteminden yararlanılmaktadır (Costa J. 2020). İmmünoterapi yöntemi kanser hücrelerinin büyümesini durdurmaya veya yavaşlatmaya yardımcı olmaktadır. Aynı zamanda bağışıklık sisteminin kanser hücrelerini yok etmesine ya da vücudun diğer bölgelerine yayılmasına engel olmaktadır. Monoklonal antikorlar, onkolitik virüs tedavisi, T hücre tedavisi ve kanser aşılı immünoterapi tedavi yöntemlerini oluşturmaktadır (Barbaros ve Dikmen 2015).

Küçük moleküllü ilaçlar ve monoklonal antikorlar gibi hedefe yönelik tedavi şeklinde kanserli hücrelerin çoğalması engellenerek bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi amaçlanmaktadır (Şakalar ve ark 2013). Bağışıklık sistemimiz vücuda giren zararlı yabancı maddelere karşı antikor üretmektedir. Bu antikorlar, vücudunuzdaki bağışıklık tepkisini başlatan moleküller olan antijenlere bağlanarak enfeksiyonla savaşan proteinlerdir. Monoklonal antikorlar da vücudunuzun doğal antikorlarını güçlendirmek veya kendileri antikor görevi görmek için laboratuvarında üretilen antikorlar olarak tanımlanmaktadır. Tedavide, kanser hücrelerinde anormal proteinlerin aktivitesini bloke ederek spesifik terapi olarak kullanılabilirdiği gibi aynı zamanda tümörün büyümesine ve hayatta kalmasına yardımcı olan doku ortamını

hedefleyen hedefe yönelik bir terapi gibi yöntemlerle kanserle savaşta kullanılmaktadır (Yazıcıoğlu ve ark 2018).

Hormon tedavisinde ise prostat ve meme kanseri gibi hormonların önemli rol oynadığı kanser türlerinde bu hormonların çalışma şeklini ve üreme kabiliyetlerini etkileyecek ilaçlar hastaya ağız yoluyla verilmektedir. Antiöstrojen Tamoxifen meme kanserli hastalarda hormon tedavisi olarak östrojen reseptörüne karşı etkin olarak kullanılmaktadır(Altınbaş 2001).

### **1.5 KANSER TEDAVİSİNDE FİTOTERAPİ**

Fitoterapi antioksidan özellikleri bulunan ve biyoaktif maddeler içeren bitkisel ürünlerin kanser ve diğer hastalıkların tedavisinde kullanılmasıdır. Günümüzde bitkiler çeşitli hastalıklardan korunma ve tedavilerinde popüler olarak kullanılıp araştırmalara konu olmaktadır. Uzun yıllardır bitkisel ürünler kanser tedavisinde yeni ve daha etkili antikanser maddelerin bulunmasında önemli bir kaynak olarak kullanılmaktadır. Özellikle kemoterapi ve radyoterapinin toksisitesini azaltmak ve kanser ağrısını gidermek amacıyla bitkiler kanser tedavisinde destekleyici olarak kullanılmaktadır (Yin ve ark 2013). Tamamlayıcı tedavi yöntemi adı altında hastaya standart tedavisinin yanında bitki takviyesi ile ilaçların vereceği yan etkilerin azaltılması amaçlanmıştır. Yapılan çalışmalar çeşitli bitkisel ilaçların anti kanser aktivite sergilediklerini kanıtlamıştır (Tablo 2) (Yamamoto ve ark 2003) (Di ve ark 2003).

Günümüzde bazı bitkilerin insan sağlığını destekleyecek nitelikte olması insanlar tarafından tercih edilmesine ve kullanılmasına neden olmaktadır.

Flavonoitler meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunmaktadır. En kapsamlı araştırılan flavonoitler arasında, flavopiridol, kateşinler, genistein ve kersetol (quercetin)'ün kanseri önlediği ve anti-tümör aktivitelerine sahip olduğu bilinmektedir (Cragg ve Newman 2005) (Jeong ve ark 2009). *Vernonia amygdalina*, Asteraceae familyasına ait yenilebilir bir Afrika dağ bitkisidir. Yüksek miktardaki alkaloid, saponin ve tanen içeriği sayesinde pek çok amaç için tonik olarak, sindirimi iyileştirmek, ateşi düşürmek ve organizmayı bağırsak parazitlerinden ve dermatomlardan korumak için



kullanılmaktadır. Aynı zamanda *V. amygdalina* özlerinin meme kanseri MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (Yedjou ve ark 2008). Yeşil çay flavonoidi olan epigallocatechin gallate'ın (EGCG) tümör hücreleri üzerindeki etkisi farklı meme kanseri hücre dizileri üzerinde test edilmiş ve EGCG orta düzeyde bir pro-apoptotik aktivitesi olduğu bildirilmiştir (Carlson ve ark 2007).

Bitkisel ürün	Kanser	Kaynak	Referans
Resveratrol	Kolon kanseri	Üzüm, böğütle, yaban mersini	Resveratrol depresses the growth of colorectal aberrant crypt foci by affecting bax and p21(CIP) expression. Tessitore L, Davit A, Sarotto I, Caderni G Carcinogenesis. 2000 Aug; 21(8):1619-22
Kurkumin	Akciğer kanseri	zerdeçal	Curcumin reverses cisplatin resistance in cisplatin-resistant lung cancer cells by inhibiting FA/BRCA pathway Ping Chen 1, Jian Li, He-Guo Jiang, Ting Lan, Yong-Chang Chen
Kafeik asit	Akciğer kanseri	kahve, kırmızı şarap, otlar, meyveler	Protective effect of caffeic acid on paclitaxel induced anti-proliferation and apoptosis of lung cancer cells involves NF- $\kappa$ B pathway.
Kroksin	Yumurtalık ve prostat kanseri	safran	Crocetin and Crocin from Saffron in Cancer Chemotherapy and Chemoprevention
Fesleğen	Meme kanseri	Quercetin	Effects of low dose quercetin: Cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression

**Tablo 2: Bitkisel ilaçların anti-kanser aktiviteleri (Demirağ 2013)**

## 2. MEME KANSERİ

Meme kanseri diğer kanserler gibi hücrelerin kontrolsüz büyümesi ve anormal sayıda artması sonucu ortaya çıkan önemli bir sağlık sorunudur. Meme kanserine neden olan hücrelerde meydana gelen genetik anormallik büyük çoğunlukla yaşlanma ve kötü yaşam tarzı sonucu ortaya çıkmaktadır (Veronesi ve ark 2005). Bu hücreler sağlıklı hücrelere kıyasla daha hızlı bölünüp kitleler oluşturmaktadır. Sıklıkla kadınlarda görülen kanser türü olmasıyla birlikte erkeklerde de görülebilmektedir. Kadınlar arasında en sıklıkla görülen kanser türlerini sırasıyla meme kanseri, bağırsak kanseri, rahim ağzı kanseri ve akciğer kanseri oluşturmaktadır. Meme kanseri, gelişmiş ve gelişmekte olan ülke kadınlarında en sıklıkla görülen kanser türlerinden olup, 2012 GLOBOCAN (The Global Cancer Observatory) verilerine göre tüm dünyada yaklaşık 1.68 milyon yeni meme kanseri vakası ve 552.000 hastalık sebebi ölümler görülmüştür (Sung ve ark 2020).

Meme kanseri 4 evreye ayrılmaktadır. Evre 0, non-invaziv kabul edilmektedir. Bu aşamada hiçbir belirti ve komşu hücrelere yayılım gözlenmemektedir. invaziv meme kanserinin erken evresi olarak bilinen Evre 1de tümör çapı 20 mm den küçük olmaktadır. Evre 2 de hastaya özel tedavilerle olumlu yanıt alınmaktadır. İki kategori altında incelenmektedir. Evre 2a, ya çapı en fazla 20 mm olan kol altındaki lenf düğümlerine yayılan invaziv meme kanseridir ya da tümörün çapı 20-50 mm arasında ve herhangi bir lenf düğümüne yayılım göstermemektedir. Evre 2b de ise tümörün çapı 20-50 mm arasındadır ve kanserli kısım kol altındaki lenf düğümlerine yayılmaktadır veya tümör çapı 50 mm'den büyük ve kol altında herhangi bir lenf düğümüne yayılmamıştır.

Evre 3 lokal olarak ilerlemiş kanserli hücrelerdir ve 3a, 3b ve 3c olarak 3 alt katagoriye ayrılmaktadır. 3a da tümör çapı 50 mm'den küçüktür ve kol altındaki lenf düğümlerine yayılım göstererek kanserli hücre kütleleri halinde büyüme göstermektedir. Evre 3b'de, tümör boyutunun sınırları yoktur ve cilde ve göğüs duvarına yayılabilmektedir. 3c'de ise tümör lenf düğümlerine genişler ve klavikula, göğüs duvarı ve göğüs derisinin altına veya üstüne yayılmaktadır. Metastaz kanseri olarakta bilinen evre 4'te kanser hücreleri akciğerler, kemikler ve beyin gibi vücudun diğer organlarına yayılım göstermektedir (Maughan ve ark 2010, American Cancer Society).

## **MEME KANSERİ TİPLERİ**

### **2.1 MEME KANSERİNİN HİSTOLOJİK SINIFLAMASI**

Meme kanseri histolojik olarak *in situ* ve invaziv karsinom olmak üzere iki başlık altında sınıflandırılmaktadır. İnvaziv karsinomda neoplastik hücreler bazal membranı aşarak stromaya invazyon göstermektedir bu nedenle metataz yapabilme kapasitesine sahiptirler. Tümör hücrelerinin histopatolojik sınıflandırılmasında, sitolojik özelliklerinin yanı sıra yapısal özellikleri de göz önüne alınmalıdır.

#### ***In situ* Meme Kanseri**

Non invaziv karsinom olarak da bilinen bazal membranı delip geçici özellikte olmayan meme kanseri çeşitidir. Yani bu durumda kanser kanalın ya da süt bezinin dışına çıkıp yayılmamaktadır. Kanser süt bezinden kaynaklanıyorsa lobüler karsinoma, süt kanalından kaynaklanıyorsa duktal karsinoma olarak bilinmektedir. Duktal ve lobüler karsinoma olmak üzere iki tipten oluşmaktadır. Lobüler karsinoma *in situ* (LCIS) da klinik ve mamografi bulgusu gözlenmez ve kansere dönüşmez. Duktal karsinoma *in situ* LCIS den farklı olarak kansere dönüşebilir tiptedir. Tipik klinik özellikleri memede kitle, ağrı ve meme başı akıntısı oluşturmaktadır ve mamografide biçimsiz mikrokalsifikasyon kümeleri görülmektedir. (Sinn HP ve ark 2013).

#### **İnvaziv Meme Kanseri**

İnvaziv meme kanserinde hücreler bazal membranı delerek çevre dokuya çıkmaktadır. Böylece kanser hücreleri kana ve lenfatik sisteme karışıp lenf nodlarına ve uzak organlara ulaşabilmektedir. İnvazif duktal karsinom ve invazif lobüler karsinom olmak üzere iki türe ayrılmaktadır. İnvazif duktal karsinom (IDC) memenin süt kanallarını döşeyen hücrelerde başlayıp memenin içindeki yağ dokusuna yayılım göstermektedir ve kan veya lenf yolu ile vücudun diğer bölgelerine metastaz yapma potansiyeli taşımaktadır. Meme tümörlerinin büyük bir kısmı meme duktal epitelinden köken almaktadırlar (Yıldırım ve ark 2019). İnvazif lobüler karsinom, süt üreten salgı

bezlerinde başlayarak vücudun diğer bölgelerine yayılabilmektedir. İnvazif lobüler karsinomu mamografide tespit etmek, IDC'ye göre daha zordur. İnvaziv duktal karsinom kendi içinde çeşitli tiplere ayrılmaktadır. En sık görülen tipi NST özel olmayan tip (no special type) inflamatuvar meme kanserinden sonra prognozu en kötü olanıdır. İnflamatuvar meme kanseri meme kanserlerinin %1-4'ünü oluşturmaktadır. Kanser hücrelerinin memedeki küçük lenf damarlarını tıkaması sonucu memede yaygın iltihaplı bir görünümün oluşmasından dolayı inflamatuvar olarak adlandırılmıştır. Belirti ve şikayetler hızlı bir şekilde ortaya çıkabilmektedir (Weigelt ve ark 2010).

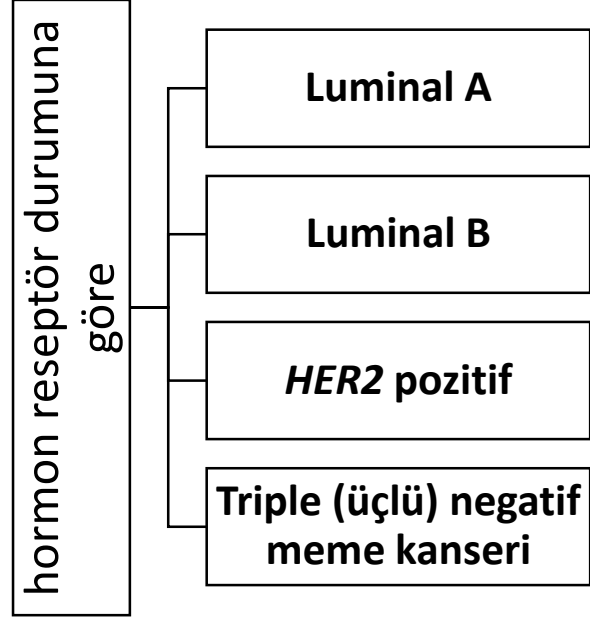
Bunlara ek olarak seyrek görülen ve özel tip meme kanseri olarakta alt tiplere ayrılmaktadır. Bunlar; medüller meme kanseri, müsinöz meme kanseri, tübüler meme kanseri, adenoid kistik meme kanseri, metaplastik meme kanseri, memenin anjiosarkomu, bazal tip meme kanseri, papiller meme kanseri olarak adlandırılmaktadır (Weigelt ve ark 2010).

### **Hormon Reseptör Durumlarına Göre Meme Kanseri Alt Tipleri**

Meme kanserleri östrojen reseptörü varlığına göre başlıca 4 değişik alt gruba ayrılır;

Buna göre östrojen reseptör (ER) pozitif tümörler; meme bezlerinin luminal hücrelerine benzer gen ekspresyonu ve diğer luminal hücrelerle ilişkili belirleyicileri içermektedirler. ER negatif tümörler ise tümör hücrelerinde insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (*HER-2*) gen amplifikasyonu gösterdiklerinden *HER2* pozitif tümörler olarak bilinmektedirler. Meme bezlerinin normal bazal hücrelerine benzer gen ekspresyonu sergileyip ER ve progesteron (PR) de negatif bulunan tümörler ise bazal-benzeri (basal-like) ya da triple (üçlü) negatif olarak adlandırılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda genellikle meme tümörlerinin luminal grupta olduğu ortaya çıkmıştır ve bunun sonucunda luminal proliferatif aktivitesine ve *HER-2* gene amplifikasyonuna göre A ve B olarak ikiye ayrılmaktadır. Luminal A grubu düşük proliferatif aktivite ve mitoz oranı içerirken luminal B grubu yüksek proliferatif etkiye sahip olmasıyla bilinmektedir. Aynı zamanda luminal B grubu luminal A grubunun

aksine *HER-2* reseptörü taşıyan tümörler olarak ayırt edilebilmektedir (Ünçel ve ark 2015).



Şekil 2: Meme kanseri alt tipleri (Bozkurt K. ve ark 2020)

## 2.2 MEME KANSERİNDE RİSK FAKTÖRLERİ

Kanserin DNA hasarı sonucu oluştuğu bilinmektedir. Ancak bu hasarın oluşum nedeni ya da nasıl oluştuğu hala kesin olarak bilinmemekle birlikte genetik ve çevresel faktörler etkili olmaktadır. Meme kanserinin oluşumunda cinsiyet, yaş, genetik yatkınlık, kadın cinsiyet hormonları önemli etkiye sahiptir (WHO). Erken adet görme (12 yaşından önce) veya geç menapoz (50 yaşından sonra) dönemi yaşayan kadınlarda meme kanseri riski artmaktadır. Genetik olarak birinci derece akrabaları kapsayan (anne, kız, kız kardeş) aile öyküsünde meme kanseri olan kadınlar yüksek risk altındadır. Bunun dışında histolojik olarak yoğun meme dokusuna sahip olmak meme kanseri riskini artırıp oluşan kitlelerin tespit edilmesini zorlaştırabilmektedir. Yapılan çalışmalar menapoz için öngörülen kombine hormon replasman tedavisi almanın meme kanseri riskini artırabildiğini ortaya koymuştur (Aly W 2021). Tıbbi amaçlarda dahil olmak üzere özellikle 30 yaş öncesinde radyasyona maruz kalmanın meme kanseri riskini artırdığı çalışmalarla belirlenmiştir (Land ve ark 2003, Ma ve ark 2008).

Çevresel ve yaşam tarzına bağlı oluşan risk faktörlerinin bir kısmı meme kanserini baskılarken bir kısmı ise uyarmaktadır. Hareketsiz yaşam tarzı, sık ve fazla alkol tüketimi ve yanlış beslenme sonucu gelişen obeziteye bağlı meme kanseri riski artmaktadır (Açıkgöz ve Akal 2017). Vitamin ve mineral içeriği yüksek, meyve ve sebze ağırlıklı beslenmenin çeşitli kanser türlerinin oluşumunu engellediği çalışmalarla ortaya konmuştur (Marjorie L ve ark 2003). Yapılan bir çalışmada düşük yağlı bir diyetin meme kanserinin önlenmesinde rol oynayabileceği gösterilmektedir (Chlebowski ve ark 2013). Uzun süreli stresin bağışıklık sistemini etkileyerek kansere yol açabileceği düşünülmektedir. Çevresel risk faktörlerinin meme kanseri oluşumuna etkisini araştırmak için yapılan bir çalışma sonucunda günlük yaşantıdaki stres düzeyinin meme kanserini anlamlı düzeyde etkilediği kanıtlanmıştır (Aydoğan ve ark 2013).

## **2.3 MEME KANSERİNDE TANI YÖNTEMLERİ**

Rutin meme taraması veya göğüs muayenesi sonucu rastlananan bir anormallik nedeniyle kesin tanı amacıyla ileri tetkikler uygulanmaktadır. Mamografi bu semptomların kanser varlığının göstergesi olup olmadığını belirlemeye yardımcı olabilmektedir. Bu yöntemde memenin daha ayrıntılı röntgeni elde edilebilmektedir. Biyopsi, şüpheli bulunan bölgenin kanserli olup olmadığını belirleyebilen tanı yöntemidir. Meme biyopsisinde şüpheli alandan doku veya sıvı alınarak elde edilen hücreler mikroskop altında incelenmektedir. İnce iğne aspirasyonu, çekirdek iğne biyopsisi ve cerrahi biyopsi olmak üzere üç tür biyopsi şekli bulunmaktadır. Ön tanıda rastlanılan yumru kolayca hissedilebilecek kadar büyük olduğunda ultrason önemli bir diğer tanı yöntemidir. Göğüs ultrasonu, yumrunun katı bir kitle veya sıvı ile dolu bir kist olup olmadığını görüntülemektedir. Ayrıca yumrunun tam boyutunun ve yerinin ölçümünde ve çevresindeki dokunun görüntülenmesinde kullanılmaktadır (Nounou ve ark 2015).

## **2.4 MEME KANSERİNDE GÜNCEL TEDAVİLER**

Tedavi yönteminin seçimi, tümör boyutu ve yerleşimine, lezyon sayısına, yaşa ve hastaların genel sağlık durumları ve tercihlerine göre belirlenmektedir. Göğüs kanseri için güncel klinik tedaviler, bireysel hasta bazında multidisipliner bir ekip aracılığıyla onkojenik süreçleri hedefleyen cerrahi, radyoterapi ve immünoterapi ile ilaç tedavilerini içerir (Howard ve Bland 2012).

### **Radyoterapi**

Radyoterapi ile kanserin olduğu bölgede ve koltukaltında kalmış olabilecek kanser hücrelerine ışın verilerek ortadan kaldırmak amaçlanmıştır. Dolayısıyla hastalığın olduğu bölgeyi veya metastasın olduğu bölgeyi tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca bu tedavideki bir diğer amaç hastalığın tekrar etmesinin önlenmesidir. Radyoterapi çalışmaları, tüm risk gruplarında, ilk tekrarlamaya riskinin yarı yarıya azaldığını ve lokal kontrolün uzun süreli sağkalım üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir (Yang ve ark 2013).

## **Kemoterapi**

Kanser hücrelerinin ilaç aracılığıyla öldürülmesi ve çevre dokulara veya hücelere yayılımının engellenmesi olayına kemoterapi denir. Kemoterapide hastaya damar yoluyla sitotoksik ilaç verilerek kanser hücrelerini ortadan kaldırmak amaçlanmaktadır. Genellikle ameliyattan sonra olası alınamamış kanser hücrelerini yok etmek için kullanılmaktadır. Kemoterapi gelecekte kanserin tekrar ortaya çıkma ihtimalini azaltmak için ameliyat sonrası verilebilmektedir. Bu tedavi adjuvan kemoterapi olarak bilinir. Ameliyat öncesi verilen kemoterapi ise birincil kemoterapi olarak bilinir ve büyüyen meme kanserinin büyümesini yavaşlatmak veya daha büyük meme kanserini küçültmek için kullanılmaktadır (Fisusi ve ark 2019).

Kemoterapide, meme kanserinin türüne ve yayılımına bağlı olarak çeşitli kombine ilaçlar verilmektedir. Kemoterapi ilaçları nasıl çalıştıklarına ve etki mekanizmalarına bağlı olarak çeşitli gruplara ayrılmaktadır. Alkilleyici ajanlar olarak bilinen ilaçlar kanser hücrelerinin DNA'sına zarar vererek kendilerini kopyalamalarını engellemektedir. Antimetabolitler hücrelerin normal metabolizmasına müdahale ederek büyümelerini durdurmaktadır. Mitoz inhibitörleri kanser hücrelerinin bölünerek çoğalmasını engellemektedir. Son grup olan topoizomeraz inhibitörleri ise kanser hücrelerinin bölünmesine ve büyümesine yardımcı olan enzimlere etki etmektedirler (Baykara 2016).

Kemoterapi ilaçları hızlı bölünme özelliğine sahip kanser hücrelerini hasara uğratmaktadır. Bu işlem sırasında kullanılan bu ilaçlar aynı zamanda bağışıklık hücreleri gibi normal ve sağlıklı hücrelerde zarar verdiği için enfeksiyonlar, iştah kaybı, saç dökülmesi ve yorgunluk gibi çeşitli yan etkiler göstermektedir. Günümüzde birçok yan etki bitkisel tedavi yöntemleri ile önlenilip kontrol edilebilmektedir (Qi ve ark 2015).



## **Cerrahi tedavi**

Meme kanseri cerrahisinde amaç, tümörü geride kalmayacak şekilde çıkarmak ve yayılım gösterdiği lenf bezlerini almaktır. Cerrahi tedavi tüm meme dokusunun çıkarılması veya sadece tümörün bulunduğu doku kısmının çıkarılması olarak sınıflandırılmaktadır (Maughan ve ark 2010).

Meme koruyucu cerrahi işleminde çıkarılacak doku miktarı kanser türüne, tümörün boyutu ve bulunduğu yere, çıkarılması gereken doku miktarına ve memenin büyüklüğüne göre belirlenmektedir. Ameliyat sonrası kanserli dokunun alındığı bölgedeki çevre dokuda kanserin kalıp kalmadığı kontrol edilerek kalması durumunda hastaya radyoterapi uygulaması verilmektedir (Maughan ve ark 2010).

Mastektomi ise bir diğer cerrahi tedavi yöntemi olup tüm meme dokusunun çıkarılması işlemidir. Bu işlem sonrası birçok hastaya göğüs rekonstrüksiyonu cerrahisi uygulanarak diğer memenin hemen hemen aynı görünümde olarak şekilde yeni bir göğüs şekli yapılarak hastanın yaşam kalitesini artırmak sağlanmaktadır (Maughan ve ark 2010).

## **İmmünoterapi**

Meme kanseri hastalarının tedavisinde immünoterapinin etkili olabildiği kanıtlanmıştır. Tümör ücrelerini hedeflemek ve bağışıklık sistemi ile farklı seviyelerde çalışmak üzere tasarlanmış, tümör hedefli immünoterapiler, onkolitik virüsler, antikanser aşılı olmak üzere farklı antikanser immünoterapi modaliteleri geliştirilmektedir. Laboratuvarda oluşturulan monoklonal antikolar kanser hücrelerinde spesifik hedeflere bağlanmak için tasarlanmış bağışıklık sistemi proteinleridir ve kanser hücrelerini işaretleyerek bağışıklık sistemi tarafından daha kolay tanınmalarına izin vermektedir. Meme kanseri aşılı, tümörle ilişkili antijenleri hedef alan içsel bir antitümör tepkisini uyarmak için tasarlanmıştır (Makhoul ve ark 2018).

### **3. MEME KANSERİ HÜCRE SERİLERİ**

#### **MDA-MB-231 MEME KANSERİ HÜCRE SERİSİ**

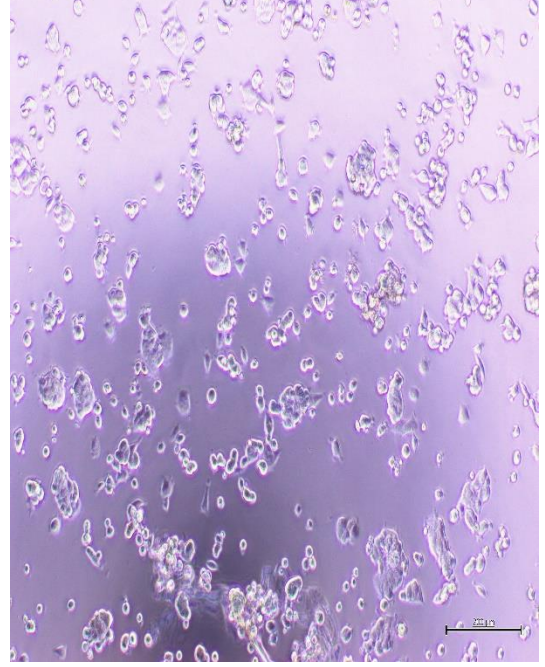
MDA-MB-231 hücre serisi, metastatik meme adenokarsinomu olan 51 yaşındaki beyaz MD Anderson isimli bir kadının plevral efüzyonundan oluşturulan bir epitelyal insan meme kanseri hücre serisidir. MDA-MB-231, östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) ekspresyonunun yanı sıra *HER2* amplifikasyonundan yoksun olduğu için oldukça agresif, invazif ve üçlü negatif meme kanseri hücre serisidir. Bu hücre serisi Claudin-3 ve Claudinin-4'ün down-regülasyonunu, Ki-67 proliferasyon işaretleyicisinin düşük ekspresyonunu, epitel-mezenkimal geçiş ile ilişkili işaretleyiciler için zenginleştirme sergilediğinden, claudin-low moleküler alt tipine aittir. 3D kültürde, hücre serisi endotel benzeri morfoloji sergiler ve genellikle birden fazla hücre kolonisini birbirine bağlayan yıldız şeklinde uzantılara sahip fenotipiyle ayırt edilmektedir (Şekil 3a). Yeni ilaç geliştirme çalışmaları ve meme kanseri için potansiyel olarak etkili aktif maddeler üzerinde birçok çalışma, MDA-MB-231 hücre serisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Welsh ve ark 2013).

#### **MCF-7 MEME KANSERİ HÜCRE SERİSİ**

MCF-7 hücreleri 1973'te kurulan Michigan Kanser Vakfı'ndaki Soule ve arkadaşları tarafından metastatik hastalığı olan 69 yaşındaki bir kadının plevral efüzyonundan izole edilmiştir. MCF-7, 40 yıldan fazla bir süredir birden fazla araştırma grubu tarafından yaygın olarak kullanılan bir meme kanseri hücre dizisidir. MCF-7, ER ve progesteron reseptörü (PR) pozitif olup luminal A moleküler alt tipine aittir ve düşük metastatik potansiyele sahiptir, zayıf agresif ve invazif olmayan bir hücre serisidir (Şekil 3b). MCF-7 hücreleri, kolayca kültürlenebildiklerinden ve hedefe yönelik tedavi edildiklerinden anti-hormon terapisi direnç çalışmaları için çok uygundur (Comşa ve ark 2015).



**Şekil 3a: MDA-MB-231 meme kanseri hücre serisi**



**Şekil 3b: MCF-7 meme kanseri hücre serisi**

#### **4. ASTRAGALUS BİTKİSİ**

Fabaceae (baklagiller) ailesine ait *Astragalus* bitkisi antik çağlardan beri Çin ve Türk toplumları başta olmak üzere birçok farklı toplumda büyük ilgi görmüştür. Yaklaşık 3000 türden oluşan *Astragalus* cinsi, önemli bir bitkisel ilaç kaynağıdır. Cinsin Türkiye florasında 440 tür içerdiği tahmin edilmektedir ve ılıman ve kurak bölgelerde yaygın olarak dağılmıştır. *Astragalus* bitkileri, yeraltı köklerinden büyüyen, yıllık veya çok yıllık sapsız bitkiler veya küçük çalılardır (Polat ve ark 2010; Ionkova ve ark 2014).

Farmakolojik çalışmalarda, *Astragalus*'un ham ekstraktları ve izole edilmiş bileşenleri, anti inflamatuvar, immünoestimulan, antioksidatif, anti kanser, anitidiyabetik, kardiyoprotektif ve antiviral aktiviteler göstermiştir (Li ve ark 2014).

Polisakkaritler, saponinler ve flavonoidler türün ana aktif bileşenlerini oluşturmaktadır. Ayrıca alkaloidler, fenolik asitler, amino asitler,  $\beta$ -sitosterol gibi diğer elementleri de içerir (Yusufoglu ve ark 2014).



**Şekil 4: *Astragalus oleifolius*** (Resimler: İ. Çalış'ın arşivinden alınmıştır)

Bu cinsin en yaygın kullanımı, çiftlik hayvanları ve vahşi hayvanlar için yem olarak kullanılır, bu cinsteki bazı bitkilerin gıdalarda, ilaçlarda, kozmetiklerde, çay veya kahvenin yerine veya bitkisel sakız kaynakları olarak kullanıldığı bilinmektedir (Li X ve ark 2014). Türkiyede bazı *Astragalus* türlerinin suda çözünen kısımları böbrek iltihabı, diyabet, lösemi ve uterus kanserinin tedavisinde güçlendirici olarak kullanılması yanında idrar söktürücü ve yara iyileştirici olarak da kullanılmaktadır (Davis ve ark 1988, Zou ve ark 2009, Zhu G 2018).

*Astragalus* polisakkaridindeki monosakkarit bileşimleri arabinoz, fruktoz, glukoz ve mannoz oluşturmaktadır. Bu cinsteki flavonoidler arasında ise flavonoller, flavonlar, flavononlar ve izoflavonoidler bulunmaktadır (Bratkov ve ark 2016).

Aynı zamanda *Astragalus* cinsi kafeik asit, klorojenik asit, gentisin, emodin ve  $\beta$ -sitosterol gibi diğer kimyasal bileşenleride içermektedir. Yapılan çalışmalar ile 140'tan fazla sikloartan tipi triterpen glikozit, 60 flavonoid ve 18 farklı polisakkaritler tanımlanmıştır (Ghasemian-Yadegari ve ark 2017). *Astragalus* türlerinin farmakolojik özelliklerinde flavonoidler ve saponinler önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalar gösterdi ki *Astragalus* türlerinden elde edilen flavonoidler ile birlikte saponinler

antioksidan, radyoprotektif, antiinflamatuvar, hipotansif ve immün düzenleyici aktiviteler göstermiştir (Kondeva-Burdina ve ark 2015).

*Astragalus membranaceus* türünden elde edilen astragalozit IV (astragaloside IV) nöron kaybını inhibe ederek, membran bütünlüğünü güçlendirerek ve oksidatif hasarı bozarak hiperglisemi aracılı nörotoksositeye karşı nöroprotektif etki göstermiştir (Elmazoğlu Z. Ver ark).

*Astragalus baibutensis* köklerinden elde edilen yeni bir sikloartan tipi triterpen glikozit olan baybutozit (baibutoside)'in, hem *Trypanosoma cruzi*'yi hemde *T. brucei rhodesiense* in vitro ortamda inhibe ederek antiprotozoal aktivitesi kanıtlanmıştır (Çalış İ. ve ark 2006).

#### **4.1 ASTRAGALUS TÜRLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİ**

##### **Anti-inflamatuvar**

Enflamasyon, vücudun yaralanmalara ve enfeksiyonlara verdiği tepkidir ve aynı zamanda iyileşmeyi etkilemek için bazı yararlı rollere sahip olabilmektedir. Enflamasyon, NO sentaz (NOS) tarafından düzenlenen nitrik oksit (NO) gibi inflamatuvar araçların ekspresyonunu ve interlökin (IL) -1 $\beta$ , IL-6 ve tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF) gibi inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu artırmaktadır (JM Zhang ve An J 2007).

Dae-Young Lee ve ark. Yaptıkları çalışma ile Agroastragaloside V ve astragaloside IV, sitotoksositeye neden olmaksızın NO(nitrik oksit) üretiminin önemli bir inhibisyonunu göstermiştir. Bu çalışma sonucunda, astragaloside IV'ün yara tedavisinde etkili olduğunu ve bu bitkinin inflamatuvar hastalıkların tedavisinde potansiyel bitkisel bir ilaç olarak kullanılabilineceği bildirilmiştir (Lee DY ve ark 2013). Yapılan bir diğer çalışmada astragaloside IV'ün anti-enflamatuvar etkisine bağlı olarak NF- $\kappa$ B aracılı inflamatuvar gen ekspresyonunun inhibe olduğu ve sıçanlarda diyabetik nefropatiyi zayıflatabildiği görülmüştür (Gui D ve ark 2013).

*Astragalus membranaceus*, Th2 sitokinlerinin (IL-4, -5, -6 ve -13) ekspresyonunu baskılayarak ve TNF- $\alpha$  seviyesini düşürmekte sitokinleri düzenleyerek BALB / c farelerinde atopik dermatit (AD) benzeri deri lezyonları tedavisinde etkili olmaktadır (Kim JH ve ark 2013).

### **İmmün Sistem Düzenleyici Etkisi**

Lenfositler, hem hücresel hem de humoral immün yanıtların aktivasyonunda çok önemli rol oynamaktadır. Du ve ark. *Astragalus* polisakkaritlerinin Hepatit B aşısı için güçlü adjuvan etkiye sahip olduğunu ve Toll benzeri reseptör 4 sinyal yolunun aktivasyonu ile hem humoral hem de hücresel immün tepkileri artırabildiğini ve dönüştürücü büyüme faktörü  $\beta$  (TGF  $\beta$ ) ekspresyonunu inhibe edebildiğini ortaya koymuştur. Yapılan başka bir çalışma sonucu ise *Astragalus* polisakkarit'in etkili bir immüno-güçlendirici olduğunu, T lenfosit proliferasyonunu önemli ölçüde desteklediğini ve serum antikor titrelerini, IFN- $\gamma$ , IL-2, IgG ve IgM seviyelerini yükselttiğini göstermiştir (Guo L ve ark 2012).

Nalbantsoy ve ark. astragaloside VII ve makrofillosaponin B'nin farelerde inflamatuvar sitokinlerin uyarılması olmadan güçlü immüno-düzenleyici etkiler gösterdiğini ve in vitro inflamatuvar hücresel hedefler üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir (Nalbantsoy ve ark 2011).

### **Anti tümör Etkisi**

Bitkisel tıbbi ajanların kullanılarak yeni kemoteröpatik tedavi yolları oluşturulması için birçok klinik çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir. Birçok bitki özütü ve izole edilmiş bileşik, anti-tümör aktivitelerine sahiptir. Bu nedenle *Astragalus* türleri üzerinde, potansiyel anti-tümörjenik etkilerini incelemek için çalışmalar yapılmaktadır (Qi H ve ark 2010, Tian Q.E ve ark 2012).

*Astragalus membranaceus* bitkisinden izole edilen polisakkaritlerin deri melanoma hücreleri üzerinde antitumor aktiviteleri gözlemlenmiştir. Başka bir karaciğer tümörlü fareler üzerinde yapılan çalışmada *A. mongholicus* bitkisinden elde edilen iki polisakkaritin tümör inhibisyonu gösterdiği ortaya çıkmıştır (Li LK ve ark 2012).

Duan ve arkadaşlarının 2002 yılında bir çalışmada kemoterapi alan kanser hastalarına kemoterapi ilaçları ile birlikte *A. membranaceus* 21 gün boyunca vererek takip etmiştir. Tedavi grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hastalığın daha az ilerlediği, beyaz kan hücreleri ve trombositlerde kemoterapi etkisinin daha az olduğu, IgG ve IgM düzeylerinde artış olduğu gözlenmiştir (Duan P ve Wang ZM 2002).

Michael McCulloch ve arkadaşların küçük hücreli akciğer kanserli hastalarda yaptıkları çalışmada *A. membranaceus*'un standart platin ajanları ile kullanıldığında kemoterapi toksisitesini azalttığını ve hayatta kalış süresini uzattığı gözlenmiştir (McCulloch M ve ark 2006).

Tin MMY ve ark. Yaptıkları çalışma ile *A. membranaceus*'dan (AST) elde edilen saponinlerin, HT-29 insan kolon kanseri hücrelerinde ve tümör ksenogreftinde önemli anti-tümör aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. AST, faza özgü hücre döngüsünü durdurarak proliferasyonu inhibe edip kanser hücresinin büyümesini baskılamaktadır (Tin MM ve ark 2007).

### **Kardiyoprotektif aktivitesi**

Çeşitli bitkiler, kardiyovasküler hastalıkların tedavisi için araştırmalara konu olmuştur (Singh D ve Chaudhuri PK 2018, Xing Chang ve ark 2020, Y. Q. Sun ve ark 2017 ).

*Astragalus* türlerinden elde edilen Flavonoidler, arter duvarına ve kalp dokusuna serbest radikal hasarını azaltmaya yardımcı olan çok önemli bir antioksidan etkiye sahiptirler. *Astragalus* türleri aynı zamanda ateroskleroz, kalp hastalığı, kalp krizi ve inme riskini artıran yüksek tansiyon, yüksek kolesterol ve trigliserit seviyeleri için bitkisel bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Wang D ve ark 2012).

### **Antidiyabetik aktivitesi**

Diyabet tip 1 (T1DM) ve tip 2 (T2DM) olmak üzere sınıflandırılmaktadır. T1DM, vücudun yeterli insülin üretememesinden kaynaklanmaktadır, bu nedenle günlük insülin uygulaması ana çözümdür. T2DM ise, periferik dokularda insülin direnci ile

birlikte yüksek plazma insülin seviyesi ile tip 1 den farklılık göstermektedir. T2DM için tipik ilaç tedavileri ciddi yan etkilere neden olabilmektedir, bu nedenle çok amaçlı terapötik etkilere ve düşük yan etkilere sahip doğal ürünlerin T2DM ve komplikasyonlarına karşı klinik olarak kullanılabilirliği ve etkinliği olduğu kanıtlanmıştır (Xu L ve ark 2018).

İndüklenebilir nitrik oksit (NO), tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-6 (IL-6) ve gelişmiş glikozilasyon son ürünleri (AGEs) gibi sitokinler de dahil olmak üzere proinflamatuvar moleküller iltihaplanmaya yol açarak insülin direnci sürecini teşvik etmektedir. *Astragalus membranaceus* kökünün, diyabetik iltihabı önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir (Xiong J ve ark 2014). Li ve ark. Astragalosid IV'ün, diyabetli hastalarda TNF- $\alpha$  ekspresyonunu azalttığını ve yüksek kan glikoz değerlerini iyileştirdiğini göstermiştir (Li L ve ark 2017).

### **Antioksidatif Aktivitesi**

Oksidatif stres, birçok hastalığın patogenezinde önemli rol oynamaktadır. Antioksidanlar, endojen veya eksojen kaynaklı olup serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini temizleyerek hücreleri ve dokuları oksidatif stresten korumaktadır (Karabulut H ve Gülay M 2016). Etkili ve güçlü eksojen antioksidan kaynağı olarak bitkiler araştırmalarda önemli bir yer tutmaktadır. *Astragalus* türlerinin, saponinler, flavonoidler ve polisakkaritler gibi farklı izole bileşenleri de antioksidan mekanizmalar yoluyla doku hasarını önemli ölçüde önlediğini göstermiştir.

*Astragalus membranaceus* türünden, elde edilen saponinlerin anti-oksidan özelliğe sahip olduğu ve oksidatif stres kaynaklı prematüre diyabetik nefropati'ye karşı olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir (Adıgüzel A ve ark 2009). *Astragalus* türlerinden elde edilen astragalosit'in in vivo çalışmalarla oksidatif hasara karşı koruyucu etkisi olduğu belirtilmiştir (Li X ve ark 2016). *Astragalus* saponinlerin anti-karsinogenik etkilerinin incelenmesi için yapılan başka bir çalışmada astragenol ve sikloastragenol türevli moleküllerin, prostat kanseri kemoprevensiyonu için umut verici anti-inflamatuvar ajanlar olduğu kanıtlanmıştır (Debelec ve ark 2018).



## 4.2 SAPONİNLER

Saponin, *Astragalus* türünün ana kimyasal bileşenlerinden birini oluşturmaktadır ve bir triterpen glikozit (heterozit) sınıfıdır. Saponinler bitkisel kaynaklı doğal bileşiklerdir. Bazı deniz organizmalarında (deniz yıldızları) da varlıkları saptanmıştır. Suyu çalkalandıklarında sabun gibi köpüren bir yapıya sahiptir bu nedenle adını Latince sabun anlamına gelen 'sapo' kelimesinden almaktadır (Vincken JP ve ark 2007). Saponinler, beyaz renkte ve kristal yapıda olan türleri de olmasına rağmen çoğunlukla amorf ve renksiz moleküllerdir ve su, etil alkol, metil alkol gibi polar çözücülerde çözünebilmektedirler. Yapısal olarak saponinler, lipofilik bir triterpen veya steroidal sapogenol (aglikon) ile bu sapogenolün en az bir veya iki konumundan oz (= şeker) ünitelerinin glikozidik veya ester bağlarıyla birleşmesinden oluşurlar (Netala ve ark 2015). Saponinler, asitler veya enzimler yardımıyla hidroliz edildiklerinde, aglikon ve şeker ünitelerine parçalanırlar. Saponinler, geniş bir anti-tümör aktiviteleri ile karakterizedirler, proliferasyonu inhibe etmekte ve tümör hücrelerinin apoptozunu uyararak, invazif aktivitelerini azaltmaktadır (Paulina Koczurkiewicz ve ark 2015). Steroidal ve triterpenik olmak üzere başlıca iki kimyasal grup altında sınıflandırılırlar. Oleanan, ursan, lupan, hopan ve dammaran başlıca triterpenik sapogenol tipleridir ve 30 karbonlu yapılardır. Steroidal saponinler ise spirostanol, furastanol ve spirofuran yapısına sahip olup, 27 karbonlu bileşiklerdir. Sikloartanlar ise triterpenler gibi 30 karbonlu bir halka sistemine sahiptirler, biyosentez yollarında kolesterol (C<sub>27</sub>)'ün prekürsörüdür. Sikloartan tipi saponinler kanser tedavisinde kemoterapötik ajan olarak kullanılabilir. Oleanan tipi saponinlere ait saikosaponinler, platikodigeninler ve soya soya fasülyesi saponinleri anti metastatik aktiviteye sahiptir. Hemen hemen tüm saponinler tümör hücrelerinde apoptozu indükledikleri için kanser tedavisinde ilaç olarak tercih edilebilmektedir (Man S ve ark 2010). Kardiyotonik, hipokolesteremik, anti-depresif ve antiblastik etkilere ve immünomodülatör aktiviteye sahip *Astragalus* türünün bitkilerinin en zengin sikloartan tipi saponin kaynağı oldukları çalışmalarla ortaya konmuştur. Sikloartan sınıfının şeker grubu çeşitliliği, oleananlar, ursanlar, lupanlar, dammaranlar gibi diğer saponin gruplarına kıyasla çok daha azdır. Buna göre  $\beta$ -D-glukoz,  $\beta$ -D-glukuronik asit,  $\beta$ -D-ksiloz,  $\alpha$ -L-ramnoz,  $\alpha$ -L-arabinoz ve  $\beta$ -D-apioz olmak üzere yalnızca altı farklı şeker grubu içermektedir (Li X ve ark 2014) . Dammaran

saponinlerinde tümör hücre hatlarına karşı yüksek sitotoksik aktivite sergilemeleri anti kanser aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Zhou Y ve ark 2005).

Türkiye florasında 445 *Astragalus* türü bulunmaktadır ve bu türler 60 seksiyon altında gruplandırılmıştır (Davis ve ark 1988). 60 Seksiyondan 16'sından seçilen veya rastgele toplanan 34 *Astragalus* türü sikloartan tipi glikozitler yönünden araştırılmıştır (%7.6) (Çalış İ., 2019). Yapılan çalışmalarda, *Astragalus* türlerinden çoğu sikloartan-tipi ve yanında az sayıda da olsa oleanan-tipi triterpen saponinlerin olduğu 200'e yakın bileşik elde edilmiştir. Bu bileşiklerin yapı tayinleri, kimyasal (asetilasyon, alkalın hidroliz) ve spektroskopik yöntemlerle (IR, 1D- ve 2D-NMR, FABMS) aydınlatılmıştır. Makrofillosaponinler olarak adlandırılan sikloartan tipi triterpen glikozitler A, B, C ve D *Astragalus oleifolius*'un köklerinden izole edilmiştir (Çalış İ ve ark 1996).

#### **4.3 Astragaloside IV, Cyclocanthoside E, Astrasieversianin X, Macrophylosaponin D, Macrophylosaponin B**

*Astragalus* türleri sikloartanlar için önemli bir kaynak olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Astragalus* türlerinden elde edilen beş farklı sikloartan tipi saponin (Astragaloside IV, Cyclocanthoside E, Astrasieversianin X, Macrophylosaponin D, Macrophylosaponin B) (Tablo 3) kullanılmıştır. Astragaloside IV en çok çalışılan ve karşılaştığımız bir sikloartan-tip triterpen glikozit türüdür. Astragaloside IV, *Astragalus membranaceus*'tan ekstrakte edilen bir lanolin alkol türevi tetrasiklik triterpen saponindir.  $C_{41}H_{68}O_{14}$  moleküler formülüne sahip beyaz bir tozdur. Bağlı moleküler ağırlığı 784,97'dir ve metanol, etanol, aseton içinde kolayca çözebilmektedir (Tan YQ ve ark 2020). Antioksidan, antiviral, antibakteriyel, antiinflamatuar, antifibrotik, antiastmatik, antidiyabetik, immünoregülasyon ve kardiyoprotektif etkilere sahiptir (Li L ve ark 2017).

Cyclocanthoside E, bilinen glikozitlere ek olarak *Astragalus microcephalus* köklerinden elde edilmiştir (Bedir ve ark 1998). Türkiye'de *A. microcephalus* kitre (*Tragacantha*, zamk) üretimi için kullanılmaktadır (Doğan M. ve ark 1985).

Makrofillosaponin B ve D ise *Astragalus oleifolius*'un köklerinden izole edilmiş ve kimyasal yapıları sırasıyla şu şekilde aydınlatılmıştır; 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-24-O- $\beta$ -D-ksilopiranozil-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,7 $\beta$ ,-24(S),25-pentahidroksi-sikloartan ve 3-O- $\alpha$ -L-ramnopiranozil-24-O-(2-O- $\beta$ -D-ksilopiranozil)- $\beta$ -D-ksilopiranozil-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,7 $\beta$ ,24(S),25-pentahidroksisikloartan (Çalış ve ark 1996).

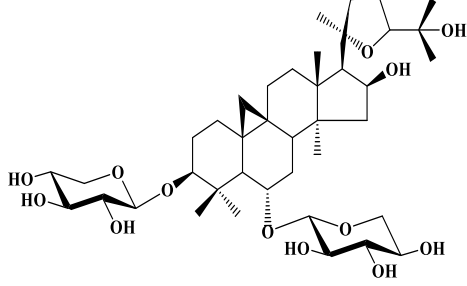
Astrasieversianin X ise *Astragalus melanophrurius*'dan izole edilmiştir. Ayrıca, *Astragalus melanophrurius* kaynaklı saponinlerin lenfosit transferini uyardığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Çalış ve ark 1997).

Sikloartan Glikoziti	Bitki	Çalışılan kısım
Siklokantozit E	<i>A. cephalotes</i> var. <i>brevicalyx</i>	Tüm bitki
Makrofillosaponin B-D	<i>A. oleifolius</i>	Kök
Astragalozit IV	<i>Astragalus melanophrurius</i>	Kök
	<i>Astragalus trojanus</i>	Tüm bitki
Astrasieversianin X	<i>Astragalus melanophrurius</i>	Kök

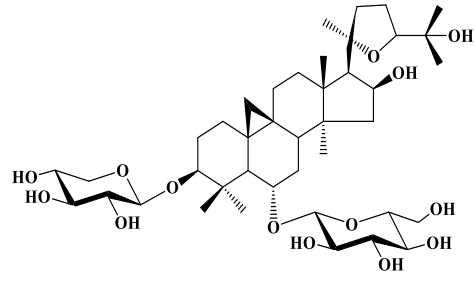
**Tablo 3: Sikloartan-tipi saponinler (Çalış ve ark 1998, Çalış ve ark 1996)**

#### 4.4 BİLEŞİKLERİN YAPILARI

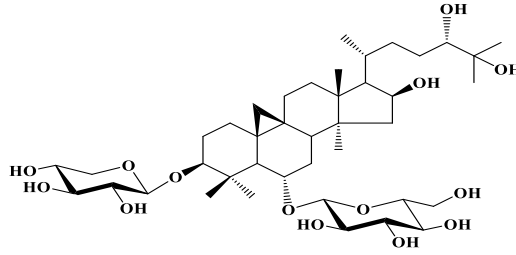
Bileşiklerin yapıları, bir ve iki boyutlu NMR teknikleri (DQF-COZY, HSQC, HMBC ve ROESY) ve kütle spektrometri (ESI-MS) yöntemlerinin kombinasyonu ile elde edilmiştir.



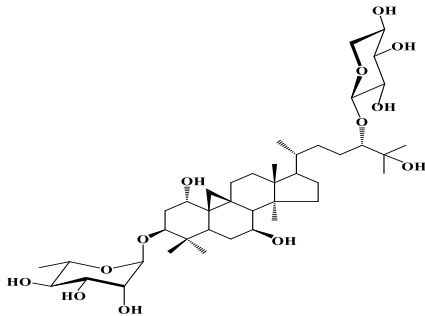
Astrasieversianin X  
(Çalış ve ark 1997)



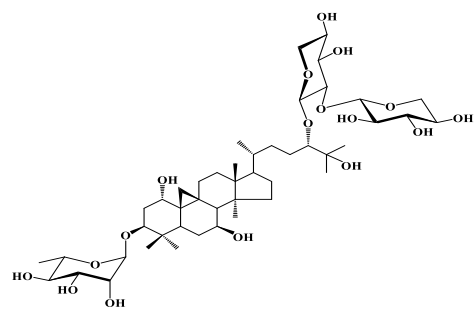
Astragaloside IV  
(Çalış ve ark 1997)



Cyclocanthoside E (Çalış ve ark 1997)



Macrophyllsaponin B  
(Çalış ve ark 1996)



Macrophyllsaponin D  
(Çalış ve ark 1996)

## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

### 5.1 Kullanılan Kimyasallar

- Penicilin-Streptomisin
- Fetal bovine serum and DMEM
- Tripsin-EDTA Solution
- DMSO-Dimetil Sulfoksit
- PBS (phosphate buffer saline)
- Paraformaldehit
- Triton-x-100
- Mounting medium

### 5.2 Kullanılan Kitler

Kit	Firma	Amaç
CCK-8 ( cell counting kit 8)	TEBU, France	CCK-8 kiti, sitotoksisite deneylerinde ve hücre proliferasyonunda canlı hücre sayısını hesaplamak için hassas kalorimetrik testler için kullanılır.
Apoptoz Tespit Kiti	Apoptag Plus Peroxidase <i>in Situ</i> , USA	Apoptoz saptama kiti, uç deoksinükleotidil transferaz (TdT) kullanarak DNA parçalarını değiştirerek apoptotik hücreleri karakterize eder ve örneklerde TUNNEL testi ile apoptotik hücrelerin saptanmasını sağlar.

### 5.3 Kullanılan Araçlar

Santrifüj	Sigma 3-18K-Germany
İnkübatör	Binder- Germany
İnvert Mikroskop	Olympus IX53- Germany
Biyogüvenlik Kabini (2.seviye)	ESCO Type A2 Biological- Germany
Dondurucu	Panasonic-Tweenguard- UK
Su Banyosu	Huber,Compatible control,CC1-Germany
Neubauer Hemositometre	Sigma Aldrich-USA
Microplate okuyucu	Versa max tunable-USA
24-well plate	Sigma Aldrich-USA
96-well plate	Sigma Aldrich-USA
Pipet, Micropipet	Eppendorf research-Germany
Hücre kültürü Flaskı T-75	Thermo Fisher-Germany
Vial	Thermo Fisher-Germany
Falkon tüp 15mL	

#### **5.4 Kullanılan Bitki Ekstraktı**

*Astragalus* türlerinden elde edilen saponinler, Astragaloside IV, Cyclocanthoside E, Astrasieversianin X, Macrophylosaponin D, Macrophylosaponin B, Prof.Dr. İhsan Çalış (Yakın Doğu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi) tarafından izole edilmiştir.

#### **Ekstraksiyonu ve izolasyonu**

Bu bileşikler, Astragaloside IV, Astrasieversianin X, Cyclocanthoside E *Astragalus melaniphurrius* (Çalış ve ark. 1997), Macrophylosaponin B ve D ise *Astragalus oleifolius*'dan izole edilmiştir (Çalış ve ark. 1996). Sikloartenol yapısında olan bu bileşiklerin ekstraksiyon ve izolasyonları, bu çalışmalarda verilmiştir.

#### **5.5 Kullanılan Meme Kanseri Hücre Serileri**

Bu çalışmada MCF-7 ve MDA-MB-231 olmak üzere iki farklı meme kanseri hücre serisi kullanılmıştır(Amerian Type Culture Collection(ATCC), Rockvilles,Maryland,USA).

### **5.6 DENEY DÜZENİĞİNİN OLUŞTURULMASI**

#### **5.6.1 Hücrelerin Çözdürülmesi**

1. Stok hücre -80°C den alınarak 37°C'deki su banyosunda kapak kısmından tutularak sallanarak çözülmesi beklendi
2. Bu sırada 37°C de ısınmış olan kültür vasatından 5 ml santrifüj tüpüne kondu.
3. Tamamen çözünmüş stok hücre vialı alkol ile silindikten sonra laminar-hava akışlı kabin içerisine alınıp 15 ml'lik içerisinde taze besi yeri bulunan santrifüj tüpüne aktarılıp ağzı hava alacak şekilde kapatıldı.
4. 1000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
5. Süpernatant pipetle çekilip atıldı. Çöken hücre pelleti üzerine 1 ml DMEM (1% L-Glutamat,1% peniciline streptomisin, 10% fetal bowine serum) yeni ortam besiyeri eklendi ve pipetaj ile hücreler iyice pipetaj edildi.

6. 25cm<sup>2</sup>'lik flaslara aktarıldı. Hücrelerin homojen dağılıp dağılmadığı mikroskop altında incelendi. Sonra %5 lik CO<sub>2</sub> inkübatörüne kaldırıldı.
7. Ertesi gün mikroskop altında hücre canlılığı incelendi. Hücreler adherent yapıda oldukları için canlı hücreler flask tabanına tutunmuş haldedirler. Ölü hücre ve artıkların ortamdan uzaklaştırılması için eski flask mediumu değiştirildi ve 6 ml yeni besiyeri eklendi.

### **5.6.2 Hücrelerin Pasajlanması**

1. Flask doluluk oranı %80-90 aralığına ulaştığı zaman yeni flaslara aktarılmak üzere pasajlama işlemi gerçekleştirildi.
2. Hücre kültür flaslardaki eski medium aspire edilerek atıldı.
3. Hücrelerin flask dibinden kaldırılması için % 0,25 lik tripsin EDTA solüsyonundan 1 ml eklendi ve yıkama yapıp uzaklaştırıldı.
4. Tekrar 5,5ml % 0,25 lik tripsin EDTA solüsyonu eklenen flaslara 10 dk kadar 37°C de inkübatörde bekletildi.
5. Mikroskopta hücrelerin flask tabanından kalkıp kalkmadığı kontrol edildi ve 5 ml medium eklenerek tripsinin etkisi inhibe edildi.
6. Tripsinli ve kalkan hücreli medium santrifüj tüpüne alınıp 1000 rpmde 5 dk santrifüj edildi.
7. Süpernatant atılıp pellet üzerine 1 ml hücre mediumu eklenip pipetaj edildi.
8. Bu süspansyondan 50 µL taze besi yeri içeren flaslara eklendi.
9. Mikroskop ile hücreler kontrol edildi ve hücre kültür flaslara üzerine pasaj sayısı ve tarih yazılarak 37°C de inkübatöre kaldırıldı.



### 5.6.3 Hücrelerin Dondurulması

Hücreler pasajlanırken, 2. ve 5. pasaj sayısı aralığında bazı hücreler pasaja devam ettirilirken, bir kısım hücre ileri çalışmalarda tekrar kullanılması amacıyla dondurup saklanmaktadır.

Pasajlama sonrası geriye kalan hücre üzerine 8 ml DMEM besiyeri eklenerek -80°C ye dayanıklı krio tüplerine aktarıldı. Üzerine 50 µL DMSO eklenerek -80°C soğutucuya konuldu.

### 5.6.4 Hücrelerin Sayılması ve Canlılık Kontrolü

Her pasaj işleminde hücrelerin canlılığı tripan mavisi boyası ile toma lamı üzerinde kontrol edildi. Hücre sayımında membran bütünlüğünün korunması esasına göre, ölü hücreler içerisine boya girdiğinden dolayı sitoplazmaları boyanmış olarak görülmektedir. Canlı hücreler ise boyayı almadığından dolayı parlak sarı renkte ayırt edilmektedir.

Hücre süspansiyonu 1000 RPM' de 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatant uzaklaştırıldı. Hücre peleti 1 ml besi yeri ile homojenize edildi. Thoma lamının üzerindeki çukur kısım üzerine bir damla tripan mavisi damlatıldı ve 100 microl Hücre buraya aktarılıp mikroskopta sayım yapıldı. Thoma lamında 16 büyük kare ve bu büyük karelerin içerisinde 16 küçük kare bulunmaktadır. Tüm bu karelerdeki hücreler sayıldığında 0,1 mm<sup>3</sup> deki hücre sayısı bulunmuş olur. Çünkü Thoma lamının esası, 0,1 mm<sup>3</sup> hacimde sayım yapılmasına dayanmaktadır. 1 ml'deki hücre sayısını bulmak için 0,1 mm<sup>3</sup> hacimdeki sayım sonucunun 10.000 ile çarpılması gerekmektedir. Sayım sonunda 1 ml deki hücre sayısı '16 büyük karedeki hücre sayısı x 10000 formülü ile hesaplandı.

### 5.6.5 Saponin Ekstraktlarının Dozunun Belirlenmesi

5 farklı kuru 5 mg'lık saponin maddesinin 20 µL ethanol+980 µL PBS içerisinde çözülmesi sağlandı. Bu stok çözelti çeşitli konsantrasyonlarda (10 µM, 100 µM, 150 µM, 200 µM olmak üzere) saponin hazırlamak için kullanıldı.

### 5.6.6 Hücre canlılığı / sitotoksosite aktivitesi ölçümü

MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre serileri üzerinde Saponinlerin hücre canlılığı / sitotoksosite aktivitesi TEBUBIO Cell Counting Kit 8 (CCK 8) kullanılarak ölçüldü. Kitin protokolü takip edilerek yapıldı.

1. Öncelikle 100 µL hücre süspansiyonundan her bir 3\*96-well plate içerisine ekildi ve 24 saat 37°C, 5% CO<sub>2</sub> inkübasyon şartlarında inkübe edildi.
2. Sürenin sonunda hücrelerin plate tabanına tutunup tutunmadığı mikroskop altında kontrol edildi.
3. Plate içerisindeki her bir kuyucuktaki besi yeri uzaklaştırıldı. µm.
4. Her saponin ekstraktı için 4 farklı konsantrasyonda (10 µM, 100 µM, 150 µM, 200 µM) kuyucuklara maddeler verildi. farklı saponin konsantrasyonlarının etkisini ölçmek için 24-48-72 saat olmak üzere hazırlanan 3 plate üzerine hücrelerin maruz kalma süreleri, adı ve tarihi yazıldı.
5. Sürelerin bitiminde plate içerisinden maddeler uzaklaştırıldı ve 10 µL CCK-8 ve 90 µL besi yeri olmak üzere master mix hazırlanıp her bir kuyucuğa 100 µL olarak eklendi ve 4 saat inkübe edildi.
6. Son olarak absorbans, bir bilgisayara bağlı Versa max ayarlanabilir mikropılaka okuyucu kullanılarak 450 nm'de ölçüldü.

### **5.6.7 Tünel Yöntemi İle Apoptoz Tespiti(Apoptag Plus Peroxidase *in Situ*, Sigma-Aldrich,USA)**

Apoptoz analizi için, kullanılan 5 farklı saponin tipleri için her iki meme kanseri hücre serilerinde de 10 ve 100 konsantrasyonları seçildi ve 24-48 saat için değerlendirme yapıldı.

1. Hazırlanan iki 24 kuyucuklu playtlerin tabanına lameller konuldu ve 400 µL hücre süspansiyonu kuyucuklara ekildi.
2. Hücrelerin lamellere tutunduğundan emin olduktan sonra içindeki süspansiyon uzaklaştırıldı ve 400 µL madde ve vasat kuyucuklara verildi.
3. Playtlerin maruz kalma süreleri (24-48 saat), adı ve tarihleri yazılarak 37°C inkübatöre bırakıldı.

### **5.6.8 Hücrelerin fiksasyonu ve boyama prosedürü**

İlk olarak paraformaldehit hazırlandı; %4'lük paraformaldehit PBS içinde çözüldü.

1. Plate içindeki besi yeri uzaklaştırıldı ve PBS(phosphate buffer saline) ile yıkama yapıldı.
2. 350 µL paraformaldehit her bir kuyucuğa eklendi ve 30 dakika bekletildi ve tekrar PBS ile yıkama yapıldı.
3. Sonra Triton-X 100 eklendi ve 15 dakika bekleyip PBS ile 3 kere yıkama yapıldı.
4. Daha sonra Hidrojen Peroksit ekleyip 5 dakika bekletildi ve PBS ile 3 kere yıkama yapıldı.
5. 55 µL equalibrition buffer eklenip 5 dakika bekletilip uzaklaştırıldı yıkama yapılmadan 55 µL TdT(terminal deoxynucleotidyl transferase enzyme) eklenip 1 saat bekletildi.
6. 55 µL stopwash buffer reaksiyonu durdurmak için eklendi ve 10 dakika bekleyip 3 kere PBS ile yıkama yapıldı.
7. Sonra 65 µL anti-digoxigenin konjugatı eklenip 30 dakika nemli ortamda bekletildi ve 3 kere PBS ile yıkama yapıldı.

8. Takibinde 50 µL DAB substratı (3,3 diaminobenzidine) her bir kuyucuğa eklenip 5 dakika sonra 3 kere PBS ile yıkandı.
9. Son olarak 5 dakika hücrelerin hematoxylen ile boyamaları yapıp yıkandı.
10. Lamel kuyucuk içerisinde alınarak mounting medium damlatılan lam üzerine yerleştirildi.

### **5.6.9 İstatistiksel analiz**

Tünel boya analizi sonucunda boyanan hücrelerin, farklı zaman aralıkları ve farklı konsantrasyona maruz kalan saponin maddeleri, arasındaki anlamlı farklılık PAWS STATISTIC 18 kullanılarak KRUSKAL WALLIS testi ile değerlendirildi.

Farklı zaman aralığında farklı saponin konsantrasyonları sonucu hücrelerin canlılık/sitotksisite testi sonucu ise GRAPHPAD PRISM SOFTWARE (version 8) kullanılarak değerlendirildi.  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 6. BULGULAR

### 6.1 MDA-MB-231 HÜCRE SERİLERİNDE SİTOTOKSİSİTE SONUÇLARI

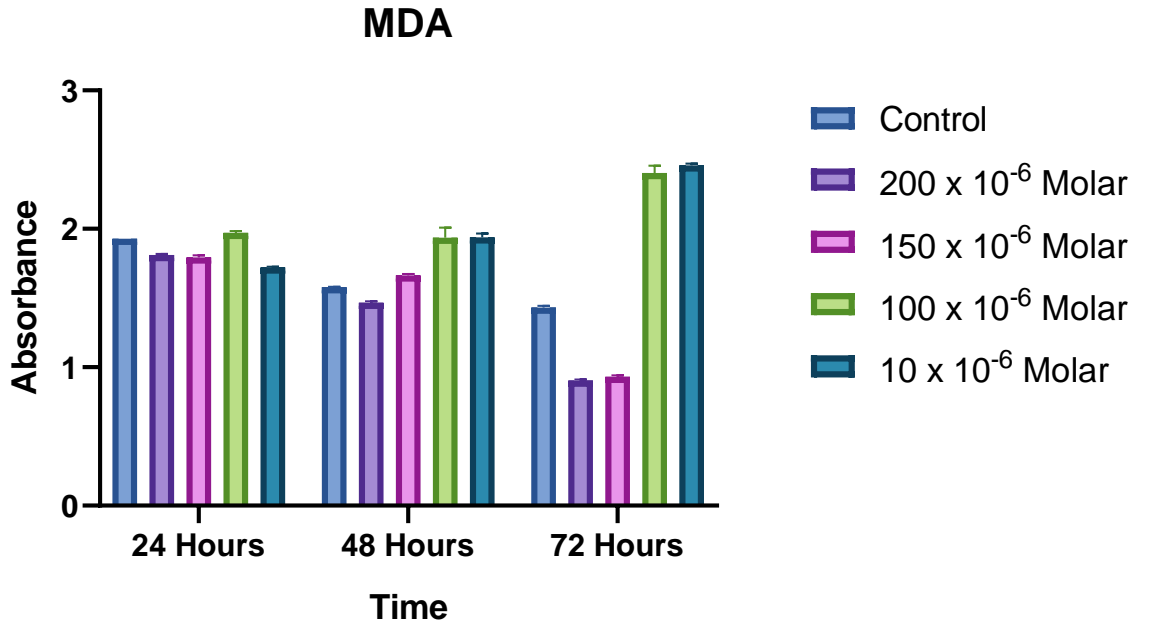
MDA-MB-231 meme kanseri hücre serilerine, farklı konsantrasyonlarda 10 µM, 100 µM, 150 µM, 200 µM saponin ekstraları verilerek absorbans değerleri Versa max ayarlanabilir mikropilaka okuyucu ile 450 nm de ölçüldü. 24-48-72 saatte MDA-MB-231 hücre serisinde kontrol ve diğer saponin konsantrasyonları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farkı belirlemek için Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi yapıldı. 24 saat için, 10 µM, 100 µM ve 200 µM konsantrasyonlarda anlamlı değişiklik kabul edildi. 48 saat için, 100 µM ve 150 µM konsantrasyonlarda anlamlı değişiklik kabul edildi. 72 saat için ise, 10 µM ve 100 µM konsantrasyonlarda anlamlı değişiklik kabul edildi (Grafik 1-5).

MDA-MB-231 hücre serisinde saponinlerin her bir konsantrasyon grubu içindeki istatistiksel olarak anlamlı farkı belirlemek için Tukey's Multiple Comparisons Testi yapıldı, 24-48-72 saat sonra elde edilen ortalamalar karşılaştırıldı.

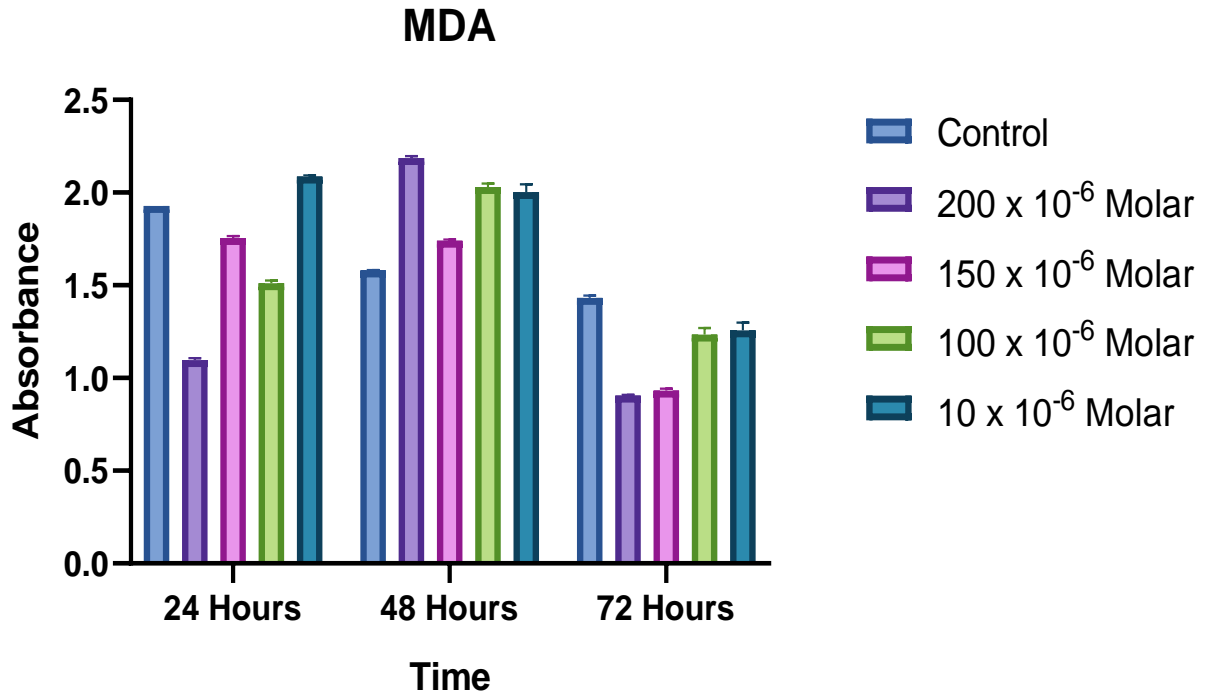
Kontrol grubu için 24h-48h ve 24h-72h saatlerinde anlamlılık kabul edildi. 200 µM ve 150 µM konsantrasyonda 24h-48h, 100 µM ve 10 µM konsantrasyonda 24h-48h, 24h-72h, 48h-72h anlamlı fark kabul edildi.

MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre serisi kültüre edildikten sonra ilk 24 ve 48. saatlerde madde verilmiş ve uverilmemiş kontrol grubuyla beraber morfolojik özellikleri şekil 10a,b, 11a,b ve 12a,b de gösterilmektedir. Madde etkileşimi sonucu, cyclocanthoside E, astrasieversianin X ve astragaloside IV maddelerinde hücrelerin bir kısmının öldüğü görülmektedir.

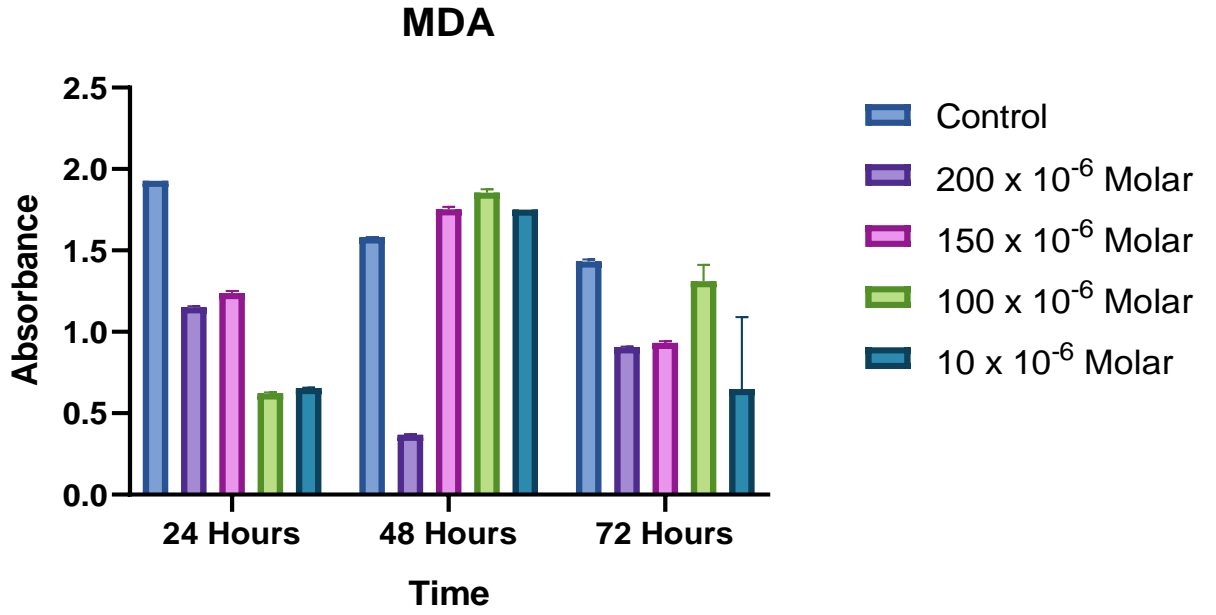
**Saponinlerin MDA-MB-231 hücre serisinde Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu 24-48-72 saatlerine göre aşağıdaki 1, 2, 3, 4 ve 5. grafiklerde gösterilmiştir:**



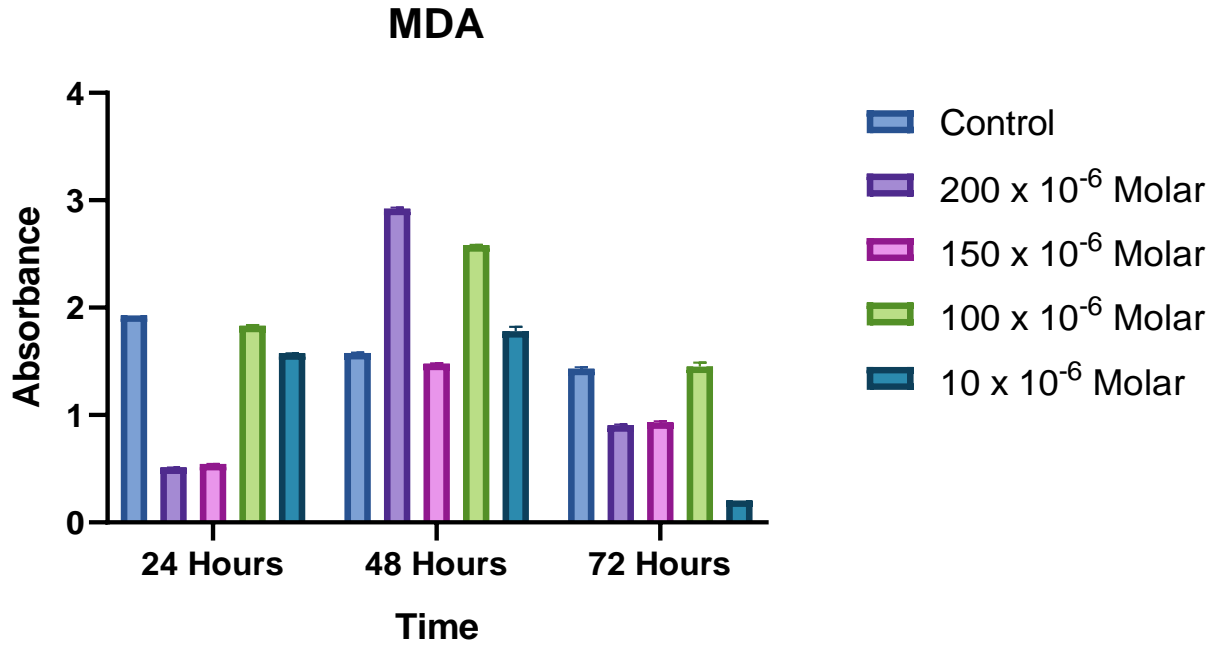
**Grafik 1:** MDA-MB-231 hücre serisinde cyclocanthoside E maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



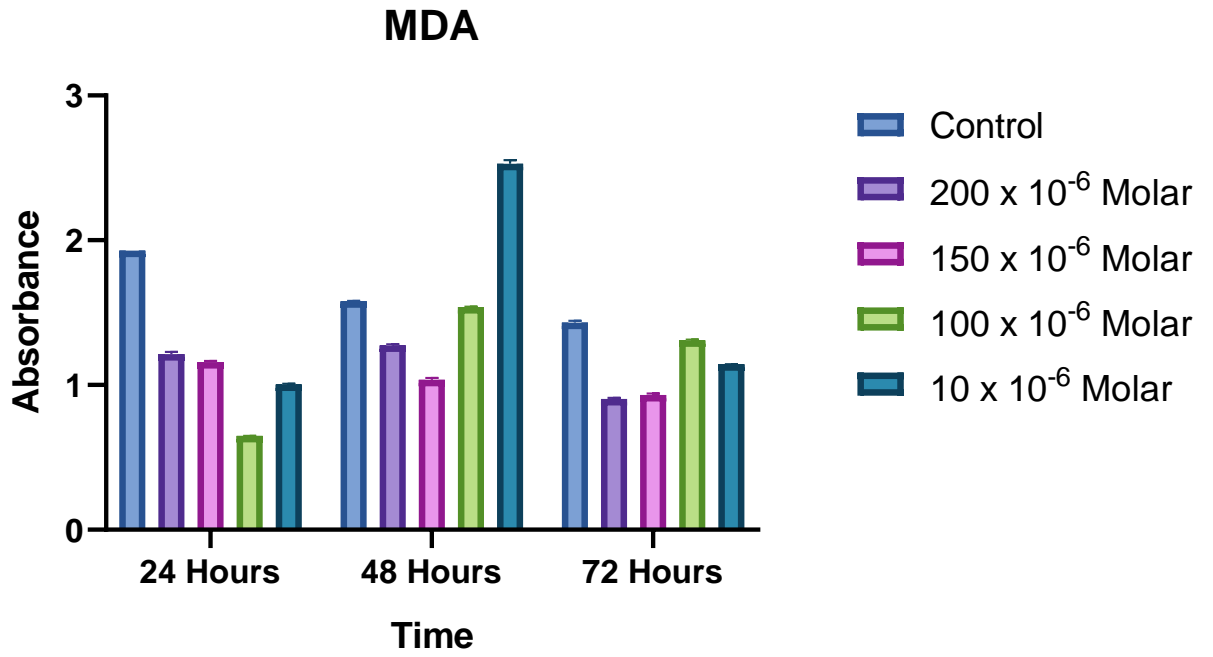
**Grafik 2:** MDA-MB-231 hücre serisinde astragaloside IV maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



**Grafik 3 :** MDA-MB-231 hücre serisinde astrasieversianin X maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



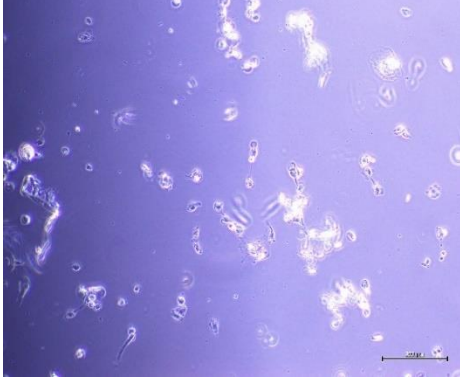
**Grafik 4:** MDA-MB-231 hücre serisinde macrophylosaponin-D maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



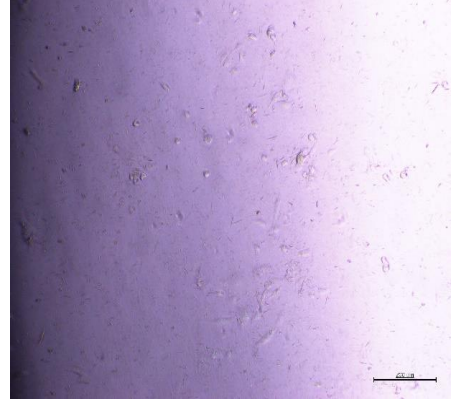
**Grafik 5 :** MDA-MB-231 hücre serisinde macrophylosaponin-B maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



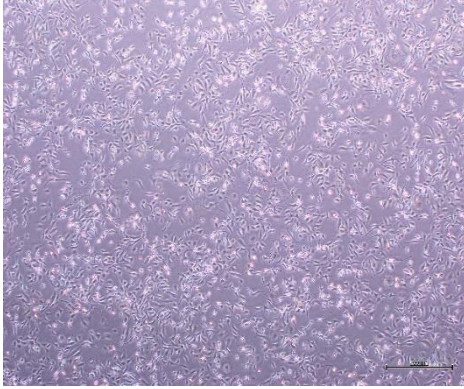
## MDA-MB-231 İnsan Meme Kanseri Hücrelerine *Astragalus* Saponinlerin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Mikroskopik Görüntüler:



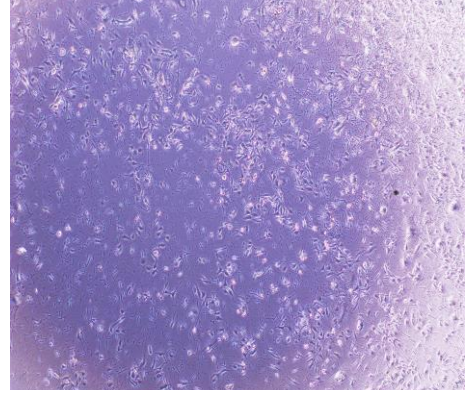
**Şekil 5a:**MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 24saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü



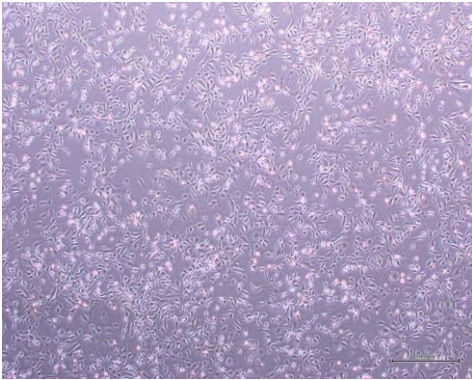
**Şekil 5b:**MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine Cyclocanthoside E maddesi uygulanmasından 24 saat sonraki mikroskopik görüntüsü. Hücre proliferasyonunda azalma görülmüştür.



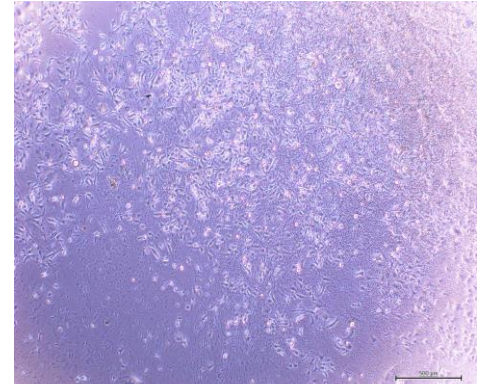
**Şekil 6a:** MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü



**Şekil 6b:**MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine Astragaloside IV maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü. Hücre proliferasyonunda azalma görülmüştür.



**Şekil 7a:** MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü



**Şekil 7b:**MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine Astrasieversianin X maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü. Hücre proliferasyonunda azalma görülmüştür.

## 6.2 MCF-7 HÜCRE SERİLERİNDE SİTOTOKSİSİTE SONUÇLARI

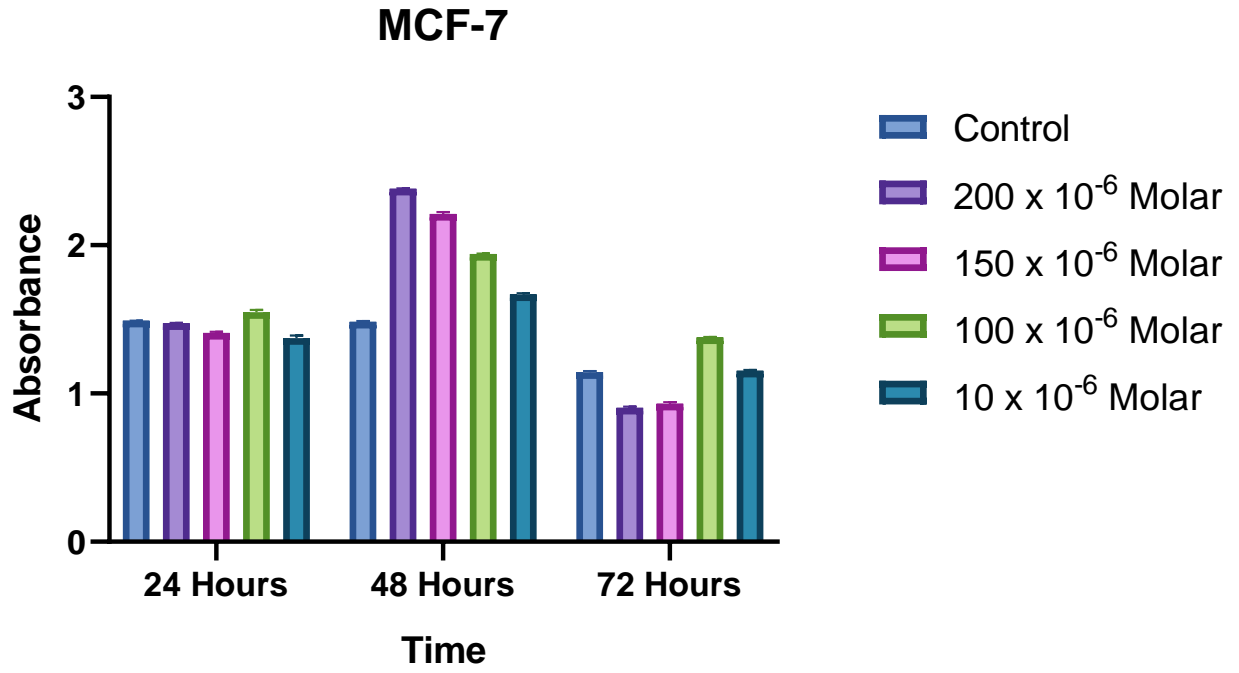
MCF-7 meme kanseri hücre serilerine, farklı konsantrasyonlarda 10 µM, 100 µM, 150 µM, 200 µM saponin ekstraktları verilerek absorbans değerleri Versa max ayarlanabilir mikroparka okuyucu ile 450 nm de ölçüldü. 24-48-72 saatte MCF-7 hücre serisinde kontrol ve diğer saponin konsantrasyonları arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farkı belirlemek için Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi yapıldı. 24 saat için, kontrol ile verilen konsantrasyonlar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. 48 saat için, tüm konsantrasyonlarda(10 µM, 100 µM, 150 µM, 200 µM) anlamlı fark gözlemlendi. 72 saat de ise 100 µM konsantrasyonda anlamlı bir fark bulundu (Grafik 6-10).

MCF-7 hücre serisinde saponinlerin her bir konsantrasyon grubu içindeki istatistiksel olarak anlamlı farkı belirlemek için Tukey's Multiple Comparisons Testi yapıldı, 24-48-72 saat sonra elde edilen ortalamalar karşılaştırıldı.

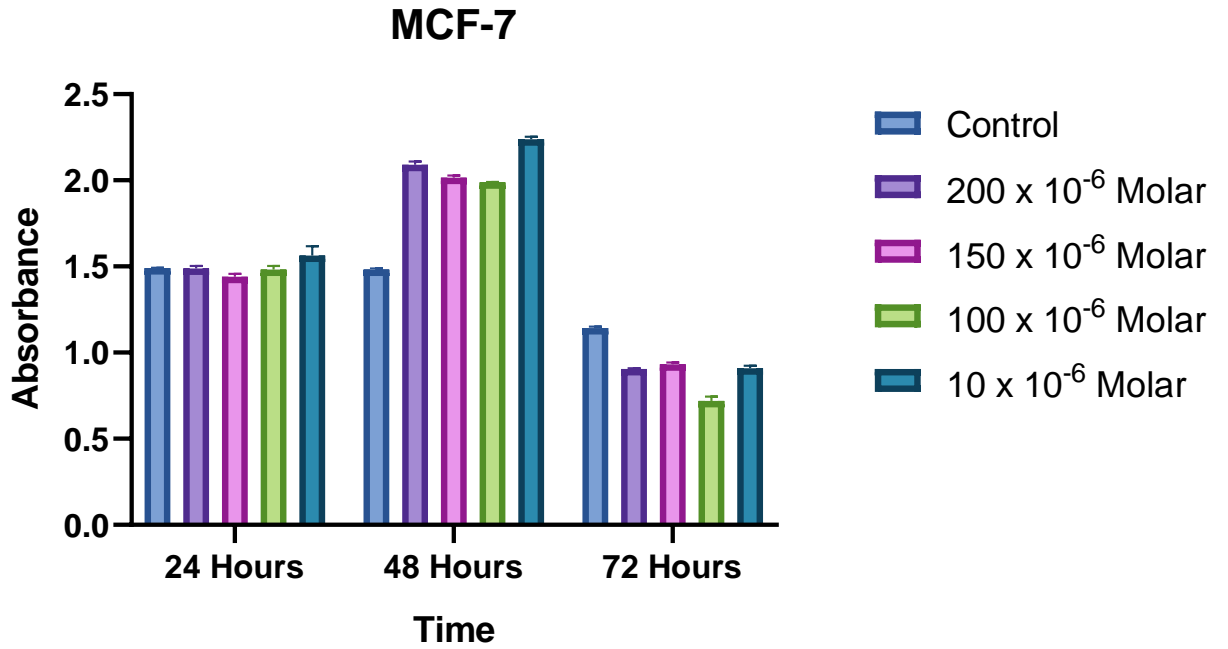
Kontrol grubu içinde 24s-48s ve 48s-72s saatlerinde anlamlılık kabul edildi. 200 µM ve 150 µM konsantrasyonlarda 24s-48s, 100 µM konsantrasyonda 24s-48s ve 10 µM konsantrasyonda 24s-48s ve 48s-72s saatlerinde anlamlılık kabul edildi.

MCF-7 insan meme kanseri hücre serisi kültüre edildikten sonra ilk 48 saatte madde verilmiş ve verilmemiş kontrol grubuyla beraber morfolojik özellikleri Şekil:13a,b, 14a,b ve 15a,b de gösterilmektedir. Madde etkileşimi sonucu cyclocanthoside E, Astragaloside X ve astragaloside IV maddelerinde hücrelerin birçoğunun öldüğü görülmektedir.

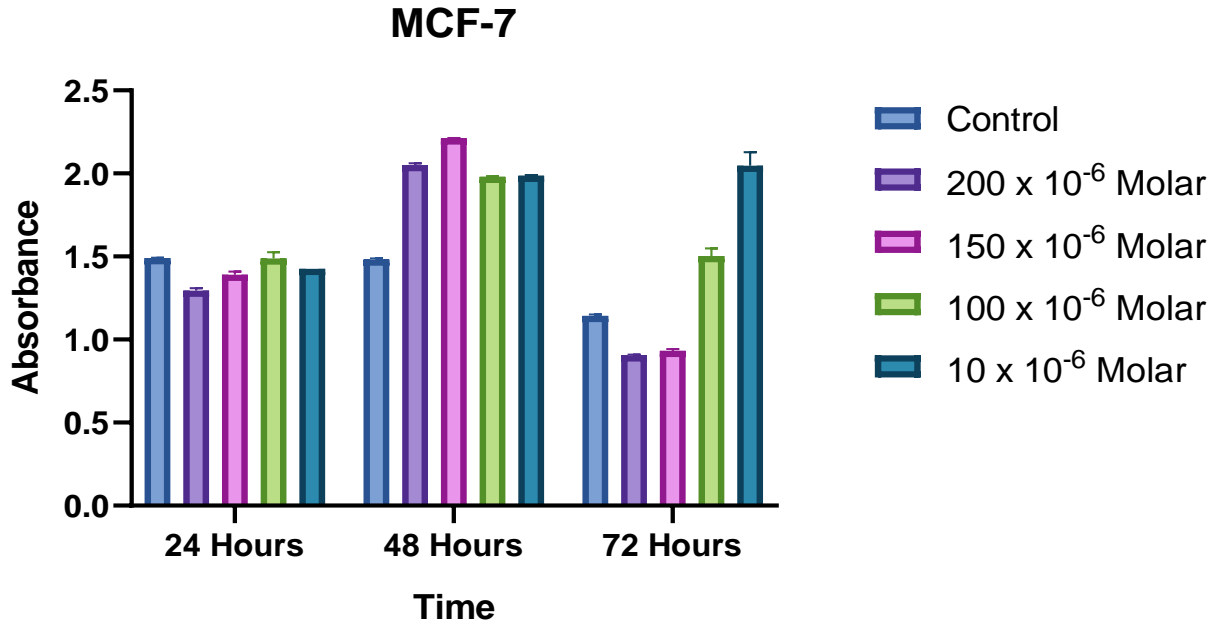
**Saponinlerin MCF-7 hücre serisinde Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu 24-48-72 saatlerine göre aşağıdaki 6, 7, 8, 9 ve 10. grafiklerde gösterilmiştir:**



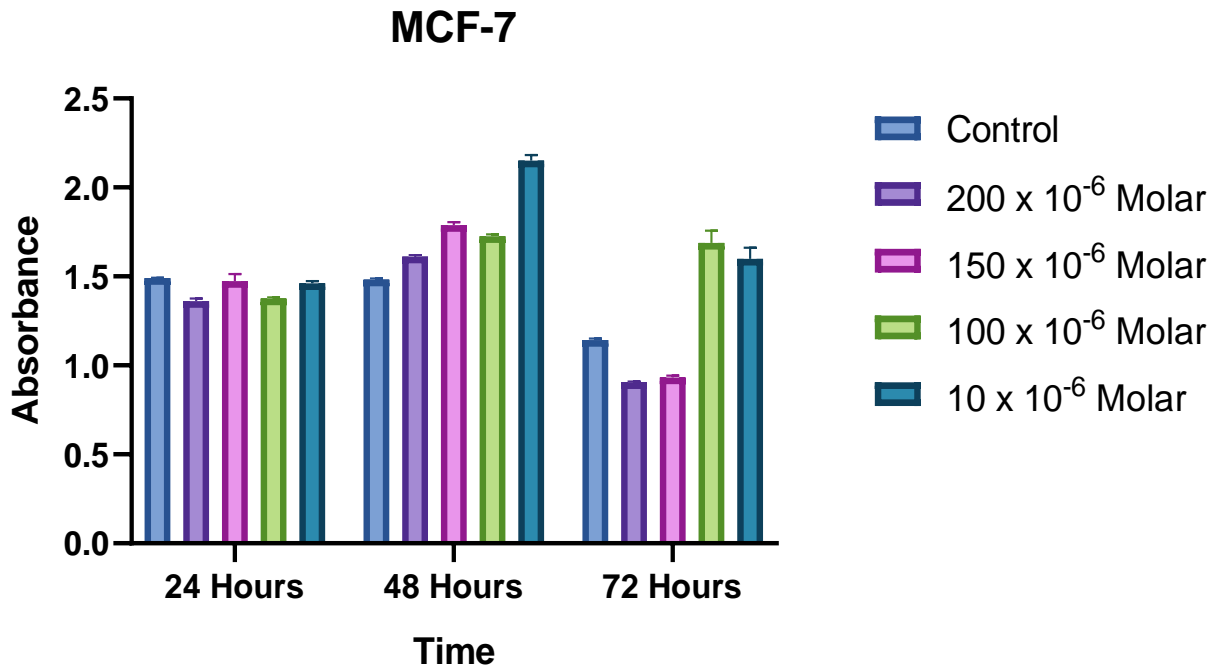
**Grafik 6:** MCF-7 hücre serisinde cyclocanthoside E maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



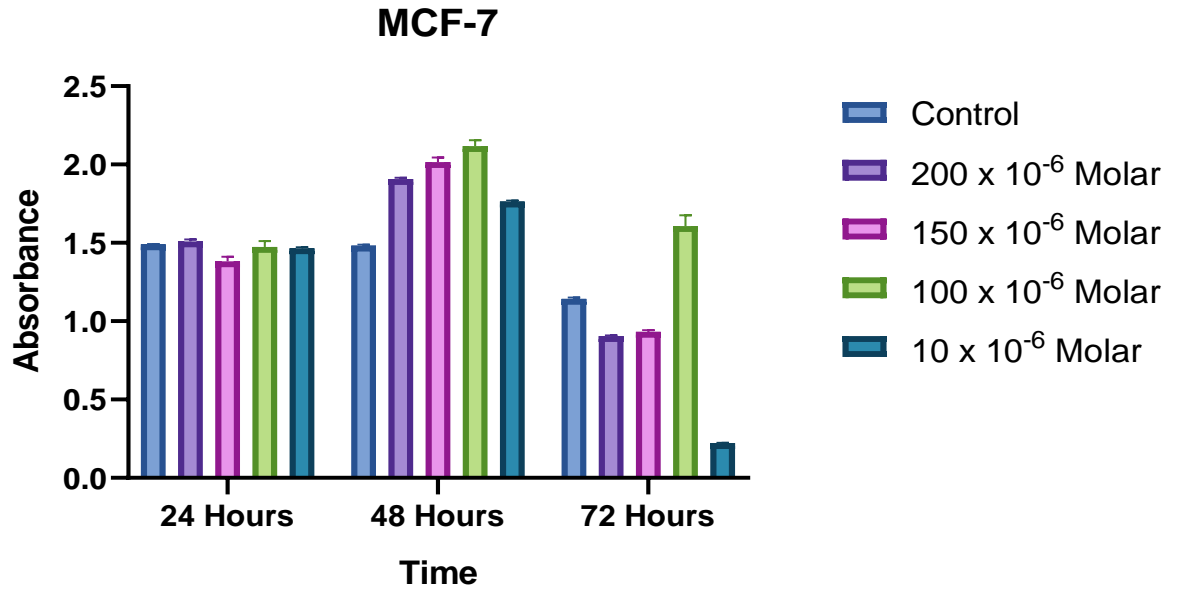
**Grafik 7:** MCF hücre serisinde astragaloside IV maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



**Grafik 8:** MCF-7 hücre serisinde macrophylosaponin-D maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



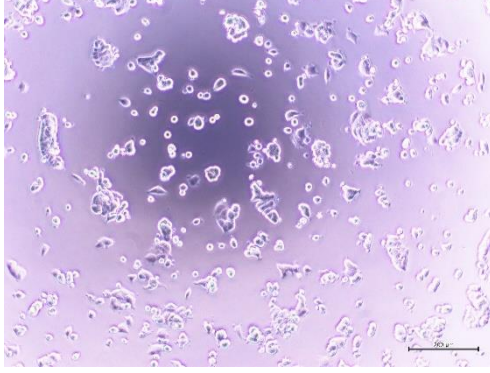
**Grafik 9:** MCF-7 hücre serisinde astrasieversianin X maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



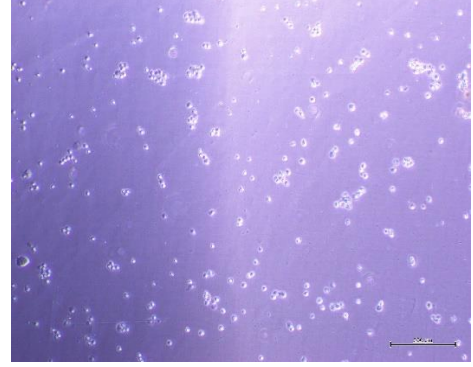
**Grafik 10:** MCF-7 hücre serisinde macrophylosaponin-B maddesi uygulanması sonucu 24-48-72 saatte Two Way Anova Dunnett's Multiple Comparisons Testi sonucu



## MCF-7 İnsan Meme Kanseri Hücrelerine *Astragalus* Saponinlerin Uygulanması Sonucu Elde Edilen Mikroskopik Görüntüler:



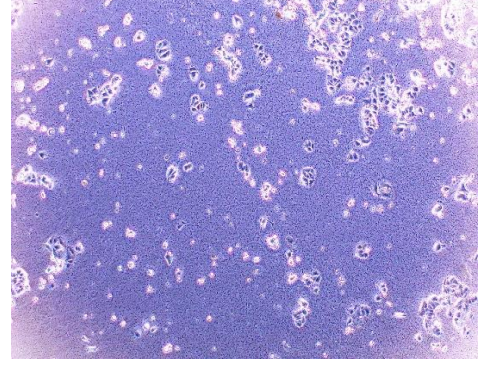
**Şekil 8a:**MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü



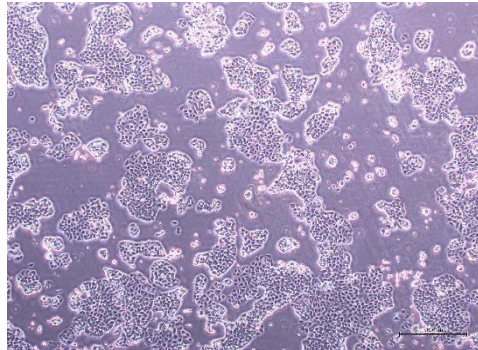
**Şekil 8b:**MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine Astrasieversianin X maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü. Hücre proliferasyonunda azalma görülmüştür.



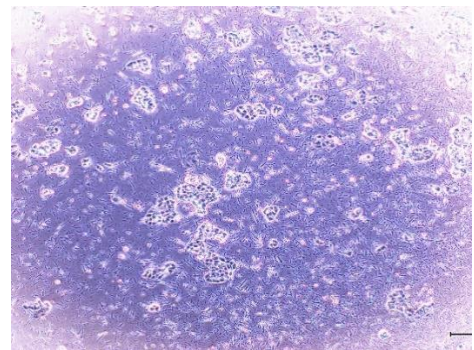
**Şekil 9a:**MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik



**Şekil 9b:**MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine Cyclocanthoside E maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü. Hücre proliferasyonunda azalma görülmüştür.



**Şekil 10a:** MCF-7 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü



**Şekil 10b:** MCF-7 insan meme kanseri hücrelerine Astragaloside X maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü. Hücre proliferasyonunda azalma görülmüştür.

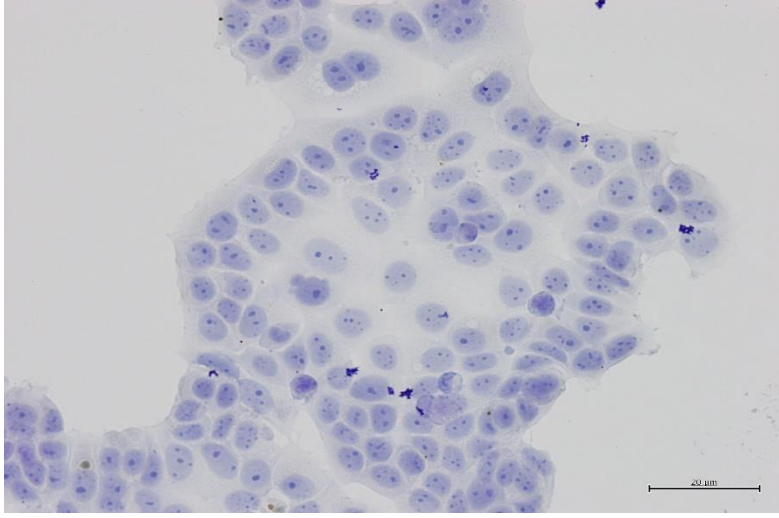
### 6.3 MCF-7 VE MDA-MB-231 HÜCRELERİNDE TUNEL ANALİZİ İLE APOPTOZUN TESPİTİ

MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücre serisinde 10 $\mu$ M ve 100 $\mu$ M konsantrasyonda saponin türleri ile 48 saat tedaviden sonra yapılan TUNEL boyama sonuçları mikroskop altında değerlendirildi. 100 hücrelik alanda boyama olan hücreler sayıldı ve sonuçlar SPSS programı ile Kruskal-Wallis Testi kullanılarak değerlendirildi. MDA-MB-231 hücre serisinde kullanılan 4 saponin türünde (cycloanthoside E, astragaloside IV, macrophilosaponin D, macrophilosaponin B), p değerleri kontrolle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 16-21); elde edilen p değerleri sırasıyla ( 0.317,1.00, 1.00,1.00). Yine aynı hücre serisinde kullanılan saponin ( astrasieversianin X) p değeri kontrolle kıyaslandığında anlamlı bir fark gözlemlendi: p değeri ( 0.04) (Şekil 20).

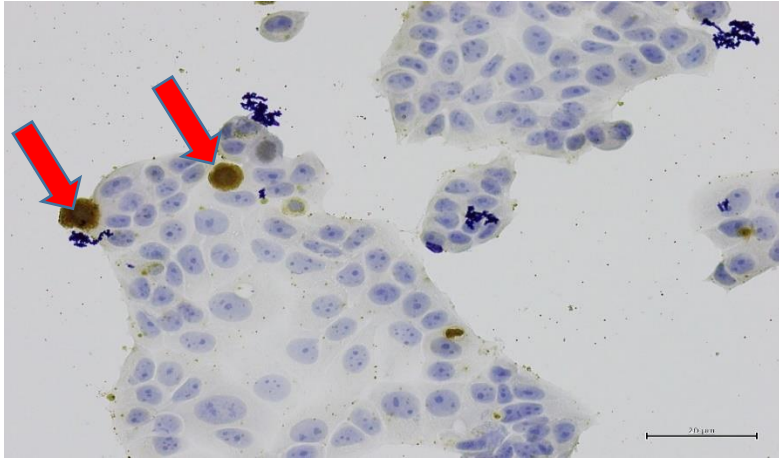
MCF-7 hücre serisinde ise kullanılan tüm saponinlerden (cycloanthoside E, astragaloside IV, macrophilosaponin D, macrophilosaponin B, astrasieversianin X) elde edilen p değerleri kontrolle kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi; p değerleri sırasıyla (0.013, 0.013, 0.014, 0.047, 0.013) (Şekil 10-15).

Maddeler arası anlamlılık değerlendirildiğinde ise MCF-7 hücre serisinde astragalosideIV ile astrasieversianin X ve astrasieversianin X ile macrophilosaponin B arasında bulunan p değeri(sırasıyla 0.02, 0.02) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. MDA-MB-231 hücre serisinde ise astragalosideIV ile astrasieversianin X, astrasieversianin X ile macrophilosaponin B ve astrasieversianin X ile macrophilosaponin D arasında bulunan p değerleri (sırasıyla 0.04, 0.04, 0.04) anlamlı kabul edildi.

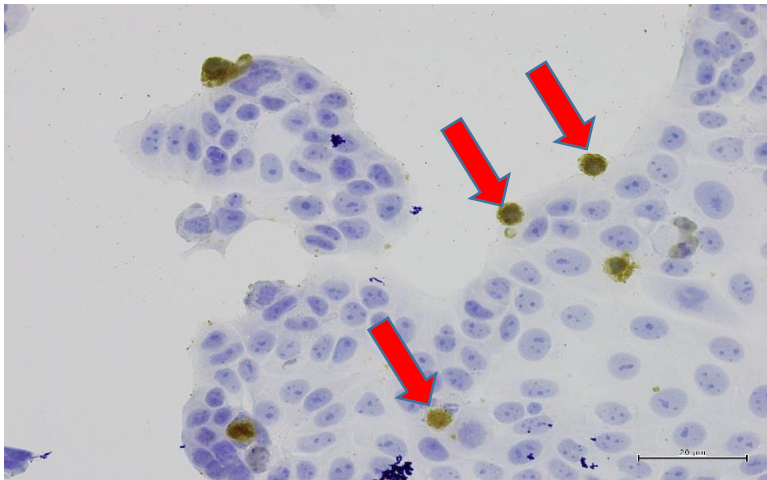
**MCF-7 Meme kanseri hücre serisinde Tünel boyama sonucu elde edilen mikroskopik (Olympus CX43 mikroskop) görüntüleri:**



Şekil 11 : Kontrol grubuna ait MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu

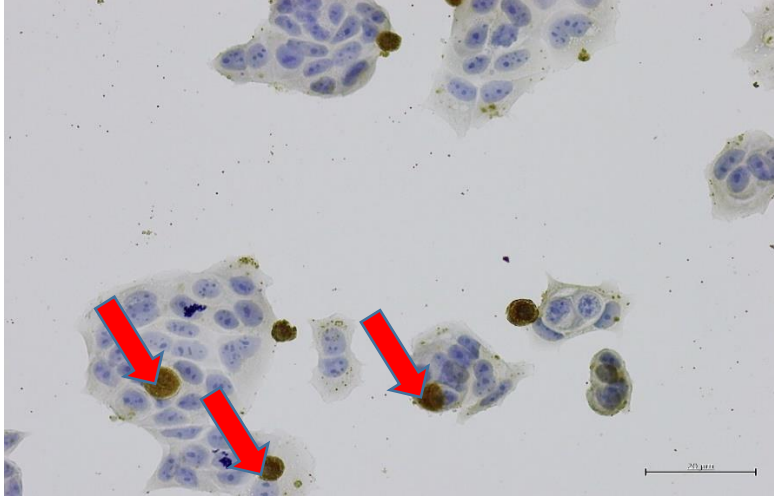


Şekil 12 : Cyclocanthoside E verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu

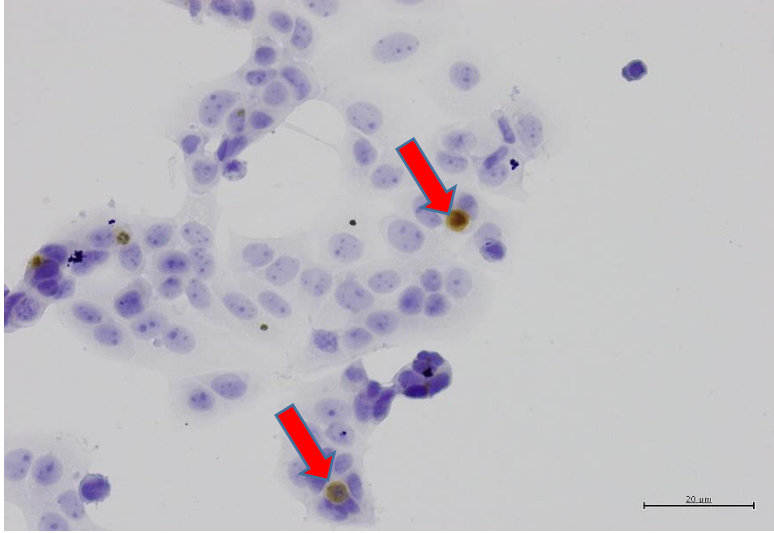


Şekil 13: Astragaloside IV verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu

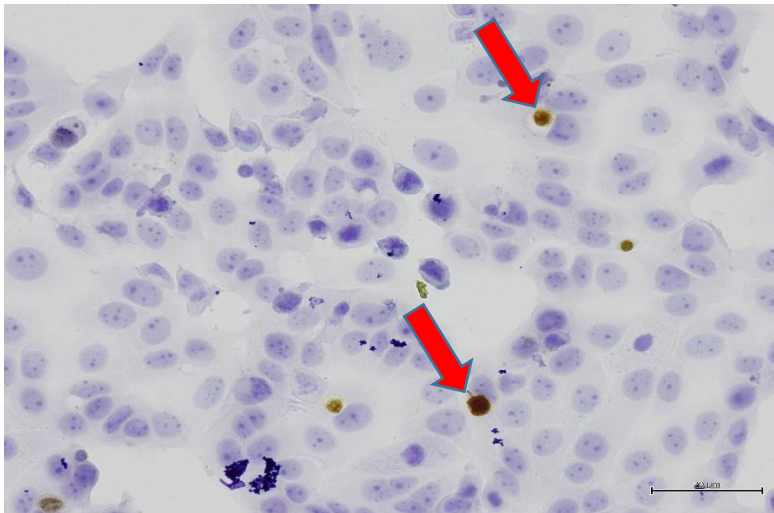




Şekil 14: Astrasieversianin X verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu

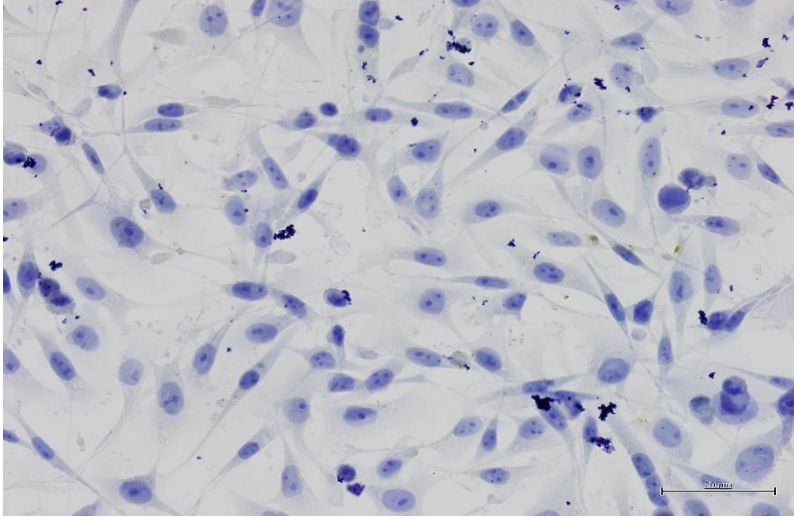


Şekil 15: Macrophylosaponin D verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu

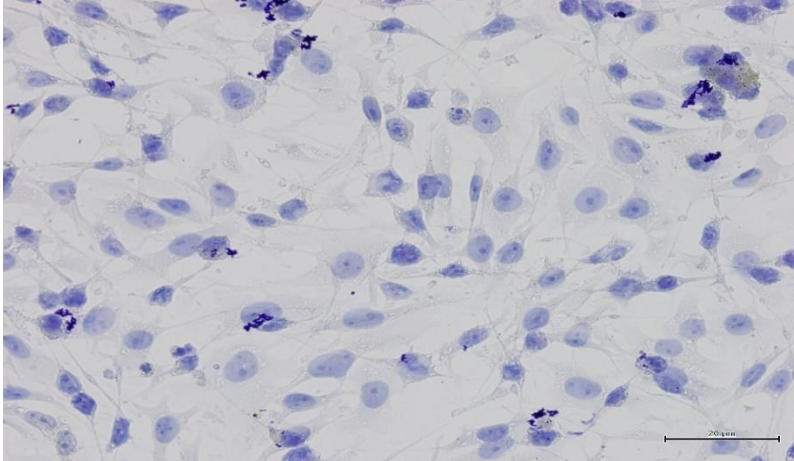


Şekil 16: Macrophylosaponin B verilmiş MCF-7 hücre serisinde tünel boyama sonucu

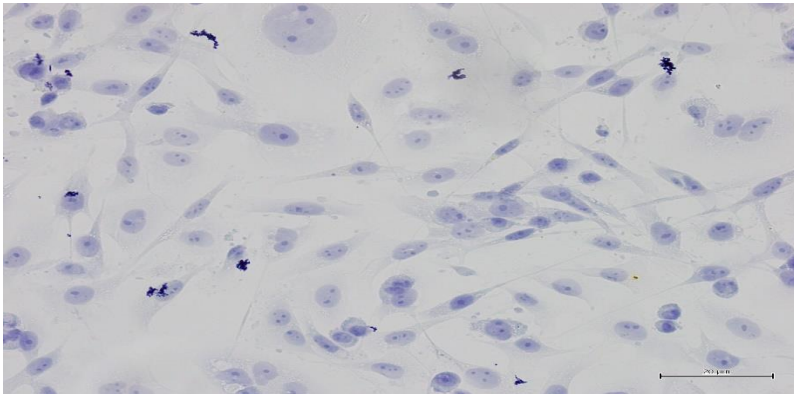
**MDA-MB-231 Meme kanseri hücre serisinde Tünel boyama sonucu elde edilen mikroskopik (Olympus CX43 mikroskop) görüntüleri:**



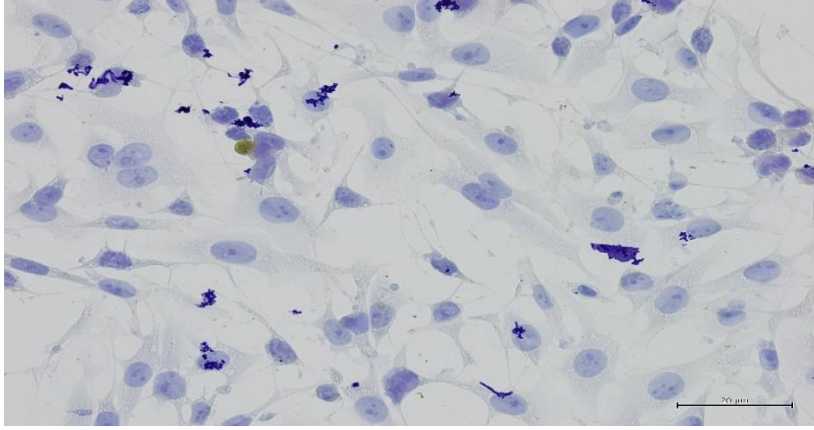
Şekil 17: Kontrol grubuna ait MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu



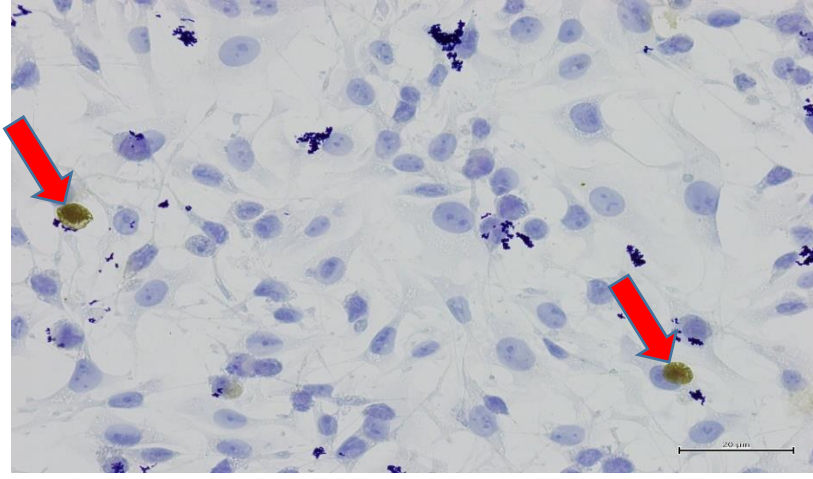
Şekil 18: Macrophylosaponin D verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu



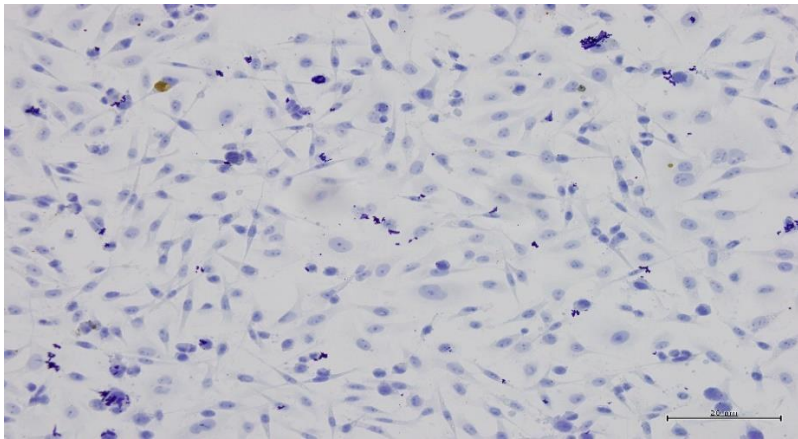
Şekil 19: Macrophylosaponin B verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu



Şekil 20: Astragaloside IV verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu



Şekil 21: Astrosieversianin X verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonuc



Şekil 22 : Cyclocanthoside E verilmiş MDA-MB-231 hücre serisinde tünel boyama sonucu

## 7. TARTIŞMA

Meme kanseri dünyada en yaygın görülen üç kanser arasındadır ve en çok araştırılan kanser çeşitlerinden biridir. Globocan verilerine göre her yıl yaklaşık 2,3 milyon yeni vaka ve 685.000 meme kanserinden ölüm olduğu tespit edilmiştir (World Health Organization 2020). Hormon replasman tedavisi , aile öyküsüne bağlı genetik faktörler veya terapötik radyasyon alımı meme kanseri gelişimi için yüksek risk faktörleridir. Kanserin erken tespiti, hastalık evresinin belirlenmesi, prognozun değerlendirilmesi ve hastalar için en uygun, etkili iyileştirici tedavinin uygulanabilmesi için önemlidir. Göğüs röntgeni, mamogram, ultrason veya MR, kemik taraması ve bilgisayarlı tomografi teşhis ve evrelemede kullanılmaktadır (Yalçın B. 2013). Ameliyat, radyasyon, ilaç tedavisi ve ayrıca gen ekspresyon modülatörlerini, immünoterapiyi, hormon terapisini içeren hedefe yönelik tedavi temel kanser tedavi yöntemlerini oluşturur (Abbas ve Rehman 2018).

Meme kanseri hastalarında, yan etkiler, ilaçların normal hücrelerdeki toksisitesi ve tümörlerin agresif davranışları nedeniyle nüks, geleneksel tedavi yöntemlerinin neden olduğu önemli sorunları oluşturmaktadır. Bitkisel ekstraktlar veya fitoterapi, doğal ürünlerin geleneksel reçeteli ilaçlardan daha az toksik olması nedeniyle çok yaygın kullanılmaktadır. Bitkilerin tamamından veya bir kısmından elde edilen ürünler kullanılmaktadır (Cassidy A 2003). Bitkisel tıbbi ürünlerin kanser tedavisinde kullanımı, kemoterapi ve radyoterapinin yan etkilerinde ve komplikasyonlarında azalma sağlayarak ve vücudun bağışıklık hücrelerinin işlevini iyileştirerek önemli etkilere neden olmaktadır. Quercetin, curcumin, soya isoflavones, lentinan gibi bitki bazlı aktif bileşikler, potansiyel kemopreventif ajanlar olarak kullanılmaktadır( Park W ve ark 2013, Kashyap D ve ark 2019, Uifălean A ve ark 2015).

Fitokimyasallar kemopreventif etkileriyle kanser tedavisinde önemli role sahiptirler. Resveratrol'ün, çeşitli tümör modellerinde, normal hücreleri etkilemeden spesifik olarak kanser hücrelerine yönelik kullanılan kemoterapötik ilaçların etkinliğini artırdığı kanıtlanmıştır(Sinha D ve ark 2016 ).

Curcumin apoptozu teşvik etmek, reaktif oksidatif türleri (ROS) temizlemek ve iltihaplı kanser mikro ortamını azaltmak gibi çeşitli moleküler mekanizmalar aracılığıyla kemopreventif etkilerini ortaya koymuştur (Wang Y ve ark 2016).

Yapılan kohort çalışmasında yüksek serum beta karoten seviyelerinin meme kanseri riskinde% 17'lik bir azalma ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur. Aynı zamanda yapılan deneysel çalışmalar sonucunda yeşil polifenollerin (epigallocatechin-3-gallate (EGCG)) çoklu sinyal yollarını modüle edebileceğini ve kanser hücrelerinin büyümesini, hayatta kalmasını ve metastazını düzenleyebildiğini gösterilmiştir (Mokbel K ve ark 2019).

Kore'de yapılan çalışmalar sonucunda ginsengin insanlarda kanser riskini azalttığı ortaya konmuştur. P. ginseng'in aktif bileşiği, kemoterapi ve radyoterapi sırasında bozulan doğal öldürücü hücreleri yeniden aktive etmekte, makrofajları indükleyerek antikör oluşumunu arttırmaktadır (Shareef M ve ark 2016).

Çin Propolisi ve polifenolik/flavonoid bileşenleri meme kanseri hücrelerinin apoptozunu indükleyerek antitümör etkiler göstermektedir ve bu sonuçta propolisi, meme kanseri tedavisi için umut verici bir doğal kaynaklı ilaç haline getirmektedir (Xuan ve ark 2014) .

Saponinler, genellikle çiçekli bitkiler (Angiospermae)'in Dicotyledonae (çift çenekli) alt bölümünden *Aesculus*, *Glycyrrhiza*, *Panax*, *Astragalus*, *Bupleurum*, *Primula*, *Cyclamen*, *Hedera*, Monocortyledonae (tek çenekli) alt bölümünden *Dioscorea*, *Smilax*, ve *Ruscus* türleri gibi tıbbi öneme sahip bitkilerde yaygın olarak bulunan, çift çeneklilerde genellikle triterpenik yapılu aglikonlara veya tek çenekli bitkilerde steroidal yapılu aglikonlara sahip olan glikozitlerdir. Kardiyoprotektif, antiinflamatuvar, antiviral ve immüno-düzenleyici olmak üzere çeşitli farmakolojik etkilere sahiptir.



Saponinler çoğunlukla Araliaceae, Leguminosae, Polygalaceae ve Campanulaceae familyalarından bitkilerde bulunur (Xu XH 2016).

Saponinler anti-proliferasyon, anti-metastaz, anti-anjiyogenez ve otofaji düzenleme eylemleri gibi farklı yollarla in vitro ve in vivo antikanser özellikler sergilemektedir (Xu XH ve ark 2016). Yapılan çalışmalarla bitki kaynaklı saponinler arasında bulunan ginsengden elde edilen ginsenoid, Rg3'ün, akciğer ve yumurtalık kanseri hücreleri dahil olmak üzere çeşitli tümörlerin invaziv ve metastatik kabiliyetini inhibe ederek ve melanom hücrelerinin apoptozunu teşvik ederek tümör büyümesini baskıladığı ortaya çıkmıştır (Lee SG ve ark 2014, Zhang Q ve ark 2006, Kim ve ark 2014).

Saponinlerin meme kanserindeki rolü ile ilgili literatürde yapılan birçok çalışma mevcuttur. Stotoksik, pro-apoptotik ve anti-invazif etkileriyle saponinlerin anti kanser aktiviteye sahip oldukları öne sürülmüştür. Ginseng saponinlerinin metastatik bir meme kanseri hücresi olan 4T1 hücresine karşı anti-metastatik etkisini ortaya koyarak meme kanseri tedavisi için geçerli bir terapötik etki oluşturabileceğini kanıtlanmıştır (Wang P ve ark 2014).

Astragaloside IV, astrasieversianin X, cyclocanthoside E, macrophylosaponin D ve macrophylosaponin B *Astragalus* türlerinden izole edilen sikloartan tipi triterpenoid saponinlerdir. *Astragalus* türlerinden elde edilen saponinler, anti-enflamatuar, immünostimülan, antioksidatif, anti-kanser, antidiyabetik, kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve antiviral özelliklere sahiptir (Li ve ark 2014).

Yapılan bir çalışmada kemoterapi ile birlikte *Astragalus* polisakkaritlerinin takviyesinin, tümör gelişimini engelleyebildiği, kemoterapinin toksik etkisini azaltabildiği, bağışıklığı yükseltip hastaların yaşam kalitesini iyileştirebildiği gösterilmiştir (Duan P ve Wang Z 2002). Bir başka çalışmada MTT testi ve bir Ki67 immünofloresan boyama analizi sonucu, *Astragalus* polisakkaritlerinin EMT (Epiyelyal-mezenkimal tranzisyon) yolunu etkileyerek meme kanseri invazyonu ve migrasyonu inhibe ettiğini göstermiştir (Yang S ve ark 2020).

Astragalus polisakkaritlerinin anti tümör aktivitesini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada, kanser tedavisinde kullanılan kemoteröpatik ilaçların yan etkilerini azaltmak ve teröpatik etkilerini artırmak amacıyla mide kanserinde kullanılan Apatinin ile Astragalus polisakkaritlerinin, insan mide kanseri hücre serisinin proliferasyonunu doza bağlı bir şekilde inhibe edip apoptozda artışa sebep olduğu kanıtlanmıştır (Wu J ve ark 2018). Yine başka bir Tümör ksenograftında yapılan in vivo alışmada adjuvan kemoterapötiklerle kombine edilen Astragalus saponinleri, anjiyogenezin düzenlenmesi gibi çeşitli etki yolaklarıyla kanser gelişimini hafifletebilmektedir (Auyeung KK ve ark 2014).

Bir başka çalışmada flow sitometri analizi sonucunda *Astragalus* saponinleri G0 / G1 fazında hücre döngüsünü durdurarak hücre döngüsünün ilerlemesini geciktirip hücre proliferasyonunu inhibe ettiği ve BGC-823 hücrelerinin apoptozunu indüklediği gösterilmiştir (Wang T ve ark 2013).

Meme kanseri hücre çalışmalarında genellikle MCF-7 and MDA-MB-231 hücre serileri kullanılmaktadır. MCF-7 hücrelerinin invazyonu ve migrasyonu, MDA-MB-231 hücreleri ile karşılaştırıldığında daha zayıftır (şimşek F ve ark 2019).

Bu tez çalışması kapsamında, saponinlerin anti-kanser özelliklerinin araştırıldığı çalışmalar ışığında *Astragalus* türlerinden elde edilen saponinlerin MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında olası sitotoksik ve apoptotik etkileri ortaya konmuştur. Bu, meme kanseri hücrelerinde *Astragalus* türlerinden elde edilen saponin ekstraktlarının anti-tümör özelliklerini araştıran ilk çalışmadır. Çalışma sonucunda düşük dozda saponin ekstratlarının, MCF7 hücrelerinde daha belirgin olmakla birlikte, MCF7 ve MDA-MB-231 hücre hatlarının hücre canlılığını azalttığı ve MCF-7 hücrelerinde apoptozunu arttırdığı görölmüştür.

Çalışmada sitotoksite yöntemlerinden olan CCK-8 testi ile hücre canlılığı değerlendirilerek saponinlerin antikanser etkileri incelenmiştir. Meme kanseri hücrelerinin büyümesini doza bağlı ve zamana bağlı olarak inhibe ettiği gözlenmiştir.

Apotozun indüklenmesi bitkilerden elde edilen ekstraların anti kanser aktivitelerinin değerlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Programlı hücre ölümü olarak da adlandırılan apoptoz, istenmeyen ve onarılamayan hücrelerin ortadan kaldırılması durumudur. Kemoterapi gibi Kanser tedavi yöntemlerinde amaçları arasında apoptoz yer almaktadır. Kanserde hücre çoğalması ve ölüm arasındaki denge bozulmaktadır. Hücre ölümünü uyaran doğal bileşiklerin ilaç olarak kullanılabilmesi bu konuda yapılan çalışmaların artmasına neden olmaktadır. Kanser oluşumunu önlemek için saponinlerin apoptoz yoluyla sitotoksik etkilerini gösteren çalışmalar mevcuttur (Han LT ve ark 2013). Bu çalışmada da *Astragalus* türlerinden elde edilen sikloartan tipi saponinlerin tünel boyama yöntemi ile MDA-MB-321 ve MCF-7 hücrelerindeki apoptotik aktiviteleri izlenmiş olup MCF-7 hücrelerinde anlamlı farklılıklar gözlenmiştir.

Bu sonuçlar doğrultusunda *Astragalus*'tan elde edilen saponinlerin MCF-7 meme kanseri hücre serisinde önemli bir anti-proliferatif ve anti apoptotik etki gösterdiği ortaya konmuştur. Bu da ileride yapılacak daha detaylı hayvan modelleri ile oluşturulacak çalışmalara öncü niteliği oluşturmuştur.



## 8. KAYNAKLAR

- Abbas Z, Rehman S. An Overview of Cancer Treatment Modalities. 2018.
- Açıköz A, Akal Yıldız E. Meme Kanseri Etiyolojisi ve Risk Faktörleri. Ergoterapi ve Rehabilitasyon Dergisi 5, 2017: 45-56
- Adıgüzel A, Sökmen M, Özkan H, Açar G. (2009). In vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of Methanol and Hexane Extract of *Astragalus* Species Growing in the Eastern Anatolia Region of Turkey . Turkish Journal of Biology, 2009;33(1), 65-71.
- Altınbaş M. Hormonal Treatment Of Breast Cancer. Erciyes Med J. 2001;23(1): 34-49
- Aly W. Breast Cancer Risk with Hormone Therapy in Transfeminine People. Transfeminine Science. 2021.
- Auyeung KK, Law PC, Ko JK. Combined therapeutic effects of vinblastine and *Astragalus* saponins in human colon cancer cells and tumor xenograft via inhibition of tumor growth and proangiogenic factors. Nutr Cancer. 2014;66(4):662-74.
- Arruebo M, Vilaboa N, Sáez-Gutierrez B, Lambea J, Tres A, Valladares M, González-Fernández A. Assessment of the evolution of cancer treatment therapies. Cancers (Basel). 2011;3(3):3279-330.
- Auyeung KK, Law PC, Ko JK. Combined therapeutic effects of vinblastine and *Astragalus* saponins in human colon cancer cells and tumor xenograft via inhibition of tumor growth and proangiogenic factors. Nutr Cancer. 2014;66(4):662-74.
- Aydoğan T, Cakcak E, Şimşek O, Erginöz E, Aydoğan F, Hatipoğlu S, Kapan S. The Effect of Current Environmental Risk Factors on Breast Cancer. Med J Bakirkoy. 2013; 9(4): 176-182
- Barbaros M, Dikmen M. Kanser İmmunoterapisi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi 2015;31(4):177-18.
- Baykara O. Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi 2016;93823.
- Bedir E, Çalış I, Zerbe O, Sticher O. Journal of Natural Products, 1998; 61, 503–505.
- Bedir E, Pugh N, Çalış İ, Pasco D, Khan I. Immunostimulatory Effects of Cycloartane-Type Triterpene Glycosides from *Astragalus* Species. Biol. Pharm. Bull. 2000;23(7) 834—837.
- Bratkov VM, Shkondrov AM, Zdraveva PK, Krasteva IN. Flavonoids from the Genus *Astragalus*: Phytochemistry and Biological Activity. Pharmacogn Rev. 2016;10(19):11-32.
- Bozkurt K, Durak Ö, Çiriş İ, Kapucuoğlu N, Devrim T. The relationship of the molecular subtypes with the clinopathological features in breast cancer. Med J SDU 2020;27(2):160-165.

- Calış I, Koyunoğlu S, Yeşilada A, Brun R, Rüedi P, Taşdemir D. Antitrypanosomal cycloartane glycosides from *Astragalus baibutensis*. Chem Biodivers. 2006;3(8):9239.
- Calış I, Zor M, Saracoğlu I, Işimer A, Rügger H. Four novel cycloartane glycosides from *Astragalus oleifolius*. J Nat Prod. 1996;59(11):1019-23.
- Carlson JR, Bauer BA, Vincent A, Limburg PJ, Wilson T. Reading the tea leaves: anticarcinogenic properties of (-)-epigallocatechin-3-gallate. Mayo Clin Proc. 2007;82(6):725-32.
- Cassidy A. Are herbal remedies and dietary supplements safe and effective for breast cancer patients? Breast Cancer Res. 2003;5(6):300-2.
- Chen P, Li J, Jiang HG, Lan T, Chen YC. Curcumin reverses cisplatin resistance in cisplatin-resistant lung cancer cells by inhibiting FA/BRCA pathway. Tumour Biol. 2015;36(5):3591-9.
- Colapietro A, Mancini A, D'Alessandro AM, Festuccia C. Crocetin and Crocin from Saffron in Cancer Chemotherapy and Chemoprevention. Anticancer Agents Med Chem. 2019;19(1):38-47.
- Comşa Ş, Cîmpean AM, Raica M. The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. Anticancer Res. 2015 Jun;35(6):3147-54.
- Costa, J. Cancer. Encyclopedia Britannica, 2020.
- Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. J Ethnopharmacol. 2005;100(1-2):72-9.
- Şakalar Ç, İzgi K, Canatan H. Kanser İmmün Terapi Ve Monoklonal Antikorlar. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi, 2013;105-110.
- Çalış I, Yürüker A, Taşdemir D, Wright AD, Sticher O, Luo YD, Pezzuto JM. (1997) Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus melanophurrius*. Planta Medica, 1997;63, 183-186.
- Çalış İ. Recent Advances on the Chemistry of Astragalus species of Turkey. XVI OPTIMA Meeting. 2019. Agricultural University of Athens, Greece.
- Debeleç-Bütüner B, Öztürk MB, Tağ Ö, Akgün İH, Yetik-Anacak G, Bedir E, Korkmaz KS. Cycloartane-type saponin derivatives inhibit NFκB activation as chemopreventive strategy for inflammation-induced prostate carcinogenesis. Steroids. 2018;135:9-20.
- Demirag SA. Herbal medicine and cancer prevention: Myth or not? OA Alternative Medicine. 2013;1(2):16.
- Di GH, Li HC, Shen ZZ, Shao ZM. Analysis of anti-proliferation of curcumin on human breast cancer cells and its mechanism. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2003;83(20):1764-8.

- Dogan M, Ekim T, Anderson D.M.W. The production of gum tragacanth from *Astragalus microcephalus* in Turkey. A contributions towards a balanced environments. *Biol. Agric. Hortic.* 1985;2, 329–334.
- Dönmez A ve Aydin Z.U. *Astragalus ihsancalisii* (Fabaceae), a new species from Erzurum province, E Turkey. *Willdenowia.*2018;48(3), 399-404.
- Du X, Chen X, Zhao B, Lv Y, Zhang H, Liu H, Chen Z, Chen Y, Zeng X. *Astragalus* polysaccharides enhance the humoral and cellular immune responses of hepatitis B surface antigen vaccination through inhibiting the expression of transforming growth factor  $\beta$  and the frequency of regulatory T cells. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2011;63(2):228-35.
- Duan P, Wang ZM. Clinical study on effect of *Astragalus* in efficacy enhancing and toxicity reducing of chemotherapy in patients of malignant tumor. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 2002;22(7):515-7.
- Duan P, Wang ZM. Clinical study on effect of *Astragalus* in efficacy enhancing and toxicity reducing of chemotherapy in patients of malignant tumor. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 2002;22(7):515-7.
- Duan P, Wang ZM. Clinical study on effect of *Astragalus* in efficacy enhancing and toxicity reducing of chemotherapy in patients of malignant tumor. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 2002;22(7):515-7.
- Elmazoglu Z, Inan Z, Keskin C, Bozkurt N, Calis I, Karasu Ç. Astragaloside IV and Forsythoside B Modulate Hyperglycemia-Mediated Neurotoxicity in Primary Hippocampal Neuronal Cells. 2019/04/25
- Emiliano Cocco, Salvatore Lopez, Alessandro D. Santin, Maurizio Scaltriti. Prevalence and role of HER2 mutations in cancer. *Pharmacology & Therapeutics.*2019;188,196
- Ergin A, Özdilek R, Dutucu N. 2012-2017 Yılları Arasında Kadınlarda Görülen Kansere Türleri Ve Dağılımları: Bir Üniversite Hastanesi Örneği. *Kadın Sağlığı Hemşireliği Dergisi.* 2019;5(1); 1-21.
- European collection of authenticated cell cultures(ECACC), Cell line profile MDA-MB-231
- Favourable and unfavourable effects on long-term survival of radiotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Lancet.* 2000;355(9217):1757-70.
- Fisusi FA, Akala EO. Drug Combinations in Breast Cancer Therapy. *Pharm Nanotechnol.* 2019;7(1):3-23.
- Ghasemian-Yadegari J, Nazemiyeh H, Hamedeyazdan S, Fathiazad F. Secondary metabolites from the roots of *Astragalus maximus*. *Research Journal of Pharmacognosy.*2017;4(2), 31-38.

Gui D, Huang J, Guo Y, Chen J, Chen Y, Xiao W, Liu X, Wang N. Astragaloside IV ameliorates renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats through inhibiting NF- $\kappa$ B-mediated inflammatory genes expression. *Cytokine*. 2013;61(3):970-7.

Guo L, Liu J, Hu Y, Wang D, Li Z, Zhang J, Qin T, Liu X, Liu C, Zhao X, Fan YP, Han G, Nguyen TL. *Astragalus* polysaccharide and sulfated epimedium polysaccharide synergistically resist the immunosuppression. *Carbohydr Polym*. 2012;90(2):1055-60.

Han LT, Fang Y, Li MM, Yang HB, Huang F. The Antitumor Effects of Triterpenoid Saponins from the *Anemone flaccida* and the Underlying Mechanism. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:517931.

Howard JH, Bland KI. Current management and treatment strategies for breast cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2012;24(1):44-8.

Ionkova I, Shkondrov A, Krasteva I. Recent progress in phytochemistry, pharmacology and biotechnology of *Astragalus* saponins. *Phytochem Rev*. 2014;13, 343–374.

Jeong JH, An JY, Kwon YT, Rhee JG, Lee YJ. Effects of low dose quercetin: cancer cell-specific inhibition of cell cycle progression. *J Cell Biochem*. 2009;106(1):73-82.

Karabulut H, Gülay M. Antioksidanlar. *Veterinary Journal Of Mehmet Akif Ersoy University 1*. 2016;65-76.

Karen L. Maughan, Mark A. Lutterbie and Peter S. Ham. Treatment of Breast Cancer. *Am Fam Physician*. 2010;81(11):1339-1346.

Kashyap D, Garg VK, Tuli HS, Yerer MB, Sak K, Sharma AK, Kumar M, Aggarwal V, Sandhu SS. Fisetin and Quercetin: Promising Flavonoids with Chemopreventive Potential. *Biomolecules*. 2019;9(5):174.

Kim JH, Kim MH, Yang G, Huh Y, Kim SH, Yang WM. Effects of topical application of *Astragalus membranaceus* on allergic dermatitis. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2013;35(1):151-6.

Kim YJ, Choi WI, Jeon BN, Choi KC, Kim K, Kim TJ, Ham J, Jang HJ, Kang KS, Ko H. Stereospecific effects of ginsenoside 20-Rg3 inhibits TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transition and suppresses lung cancer migration, invasion and anoikis resistance. *Toxicology*. 2014; 322():23-33.

Koczurkiewicz P, Czyż J, Podolak I, Wójcik K, Galanty A, Janeczko Z, Michalik M. Multidirectional effects of triterpene saponins on cancer cells - mini-review of in vitro studies. *Acta Biochim Pol*. 2015;62(3):383-93.

Kondeva-Burdina MS, Bratkov V, Simeonova RL, Vitcheva VB, Krasteva IN, Zdraveva PK. Protective effects of saponin mixture, isolated from *Astragalus monspessulanus* subsp. *monspessulanus* on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in isolated rat hepatocytes. *Am J Plant Sci*. 2015; 6(06): 799-802.

- Laikova KV, Oberemok VV, Krasnodubets AM, Gal'chinsky NV, Useinov RZ, Novikov IA, Temirova ZZ, Gorlov MV, Shved NA, Kumeiko VV, Makalish TP, Bessalova EY, Fomochkina II, Esin AS, Volkov ME, Kubyshkin AV. Advances in the Understanding of Skin Cancer: Ultraviolet Radiation, Mutations, and Antisense Oligonucleotides as Anticancer Drugs. *Molecules*. 2019;24(8):1516.
- Land CE, Tokunaga M, Koyama K, Soda M, Preston DL, Nishimori I, Tokuoka S. Incidence of female breast cancer among atomic bomb survivors, Hiroshima and Nagasaki, 1950-1990. *Radiat Res*. 2003;160(6):707-17.
- Larsson SC, Carter P, Kar S, Vithayathil M, Mason AM, Michaëlsson K, Burgess S. Smoking, alcohol consumption, and cancer: A mendelian randomisation study in UK Biobank and international genetic consortia participants. *PLoS Med*. 2020;17(7):e1003178.
- Lee DY, Noh HJ, Choi J, Lee KH, Lee MH, Lee JH, Hong Y, Lee SE, Kim SY, Kim GS. Anti-inflammatory cycloartane-type saponins of *Astragalus membranaceus*. *Molecules*. 2013;18(4):3725-32.
- Lee SG, Kim BS, Nam JO. Ginsenoside Rg3 induces apoptosis in B16F10 melanoma cells. *J Life Sci*. 2014;24:1001–1005.
- Li L, Hou X, Xu R, Liu C, Tu M. Research review on the pharmacological effects of astragaloside IV. *Fundam Clin Pharmacol*. 2017;31(1):17-36.
- Li LK, Kuang WJ, Huang YF, et al. Anti-tumor effects of *Astragalus* on hepatocellular carcinoma in vivo. *Indian J Pharmacol*. 2012;44(1):78-81.
- Li M, Yu L, She T, Gan Y, Liu F, Hu Z, Chen Y, Li S, Xia H. Astragaloside IV attenuates Toll-like receptor 4 expression via NF- $\kappa$ B pathway under high glucose condition in mesenchymal stem cells. *Eur J Pharmacol*. 2012;696(1-3):203-9.
- Li X, He D, Zhang L, Cheng X, Sheng B, Luo Y. A novel antioxidant agent, astragalosides, prevents shock wave-induced renal oxidative injury in rabbits. *Urol Res*. 2006;34(4):277-82.
- Li X, Qu L, Dong Y, Han L, Liu E, Fang S, Zhang Y, Wang T. A review of recent research progress on the *Astragalus* genus. *Molecules*. 2014;19(11):18850-80.
- Lin CL, Chen RF, Chen JY, Chu YC, Wang HM, Chou HL, Chang WC, Fong Y, Chang WT, Wu CY, Chiu CC. Protective effect of caffeic acid on paclitaxel induced anti-proliferation and apoptosis of lung cancer cells involves NF- $\kappa$ B pathway. *Int J Mol Sci*. 2012;13(5):6236-45.
- Loud JT, Murphy J. Cancer Screening and Early Detection in the 21st Century. *Semin Oncol Nurs*. 2017;33(2):121-128.
- Ma H, Hill CK, Bernstein L, Ursin G. Low-dose medical radiation exposure and breast cancer risk in women under age 50 years overall and by estrogen and progesterone receptor status: results from a case-control and a case-case comparison. *Breast Cancer Res Treat*. 2008;109(1):77-90.

- Makhoul I, Atiq M, Alwbari A, Kieber-Emmons T. Breast Cancer Immunotherapy: An Update. *Breast Cancer (Auckl)*. 2018;12:1178223418774802.
- Man S, Gao W, Zhang Y, Huang L, Liu C. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia*. 2010;81(7):703-14.
- Maughan KL, Lutterbie MA, Ham PS. Treatment of breast cancer. *Am Fam Physician*. 2010;81(11):1339-46.
- McCulloch M, See C, Shu XJ, Broffman M, Kramer A, Fan WY, Gao J, Lieb W, Shieh K, Colford JM Jr. *Astragalus*-based Chinese herbs and platinum-based chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: meta-analysis of randomized trials. *J Clin Oncol*. 2006;24(3):419-30.
- McCullough ML, Giovannucci EL. Diet and cancer prevention. *Oncogene*. 2004;23(38):6349-64.
- McCullough ML, Robertson AS, Chao A, Jacobs EJ, Stampfer MJ, Jacobs DR, Diver WR, Calle EE, Thun MJ. A prospective study of whole grains, fruits, vegetables and colon cancer risk. *Cancer Causes Control*. 2003;14(10):959-70.
- Mokbel K, Mokbel K. Chemoprevention of Breast Cancer With Vitamins and Micronutrients: A Concise Review. *In Vivo*. 2019;33(4):983-997.
- Nalbantsoy A, Nesil T, Erden S, Çalış İ, Bedir E. Adjuvant effects of *Astragalus* saponins macrophyllsaponin B and astragaloside VII. *Journal of ethnopharmacology*. 2011;134(3):897-903.
- National Breast Cancer Foundation, Inc.
- Netala V. R, S. B. Ghosh, P. Bobbu, D. Anitha, And V. Tartte. Triterpenoid Saponins: A Review On Biosynthesis, Applications And Mechanism Of Their Action. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*. 2015;24-28.
- Noonan FP, Zaidi MR, Wolnicka-Glubisz A, Anver MR, Bahn J, Wielgus A, Cadet J, Douki T, Mouret S, Tucker MA, Popratiloff A, Merlino G, De Fabo EC. Melanoma induction by ultraviolet A but not ultraviolet B radiation requires melanin pigment. *Nat Commun*. 2012;3:884.
- Nounou MI, ElAmrawy F, Ahmed N, Abdelraouf K, Goda S, Syed-Sha-Qhattal H. Breast Cancer: Conventional Diagnosis and Treatment Modalities and Recent Patents and Technologies. *Breast Cancer (Auckl)*. 2015;9(Suppl 2):17-34.
- O'Keeffe LM, Taylor G, Huxley RR, Mitchell P, Woodward M, Peters SAE. Smoking as a risk factor for lung cancer in women and men: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2018;8(10):e021611.
- Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(1):a001008.
- Park W, Amin AR, Chen ZG, Shin DM. New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2013;6(5):387-400.

- Pazarbaşı A, Kasap M. Kanser Genetiği. Arşiv 2003;12: 328.
- Pfister NT, Prives C. Transcriptional Regulation by Wil-Type and Cancer-Related Mutant Forms of p53. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017;7(2):a026054.
- Polat E, Bedir E, Perrone A, Piacente S, Alankus-Caliskan O. Triterpenoid saponins from *Astragalus wiedemannianus* Fischer. Phytochemistry. 2010;71(5-6):658-62.
- Qi H, Wei L, Han Y, Zhang Q, Lau A.S, Rong J. Proteomic characterization of the cellular response to chemopreventive triterpenoid astragaloside IV in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. Int. J. Oncol. 2010;36, 725–735.
- Qi F, Zhao L, Zhou A, Zhang B, Li A, Wang Z, Han J. The advantages of using traditional Chinese medicine as an adjunctive therapy in the whole course of cancer treatment instead of only terminal stage of cancer. Biosci Trends. 2015;9(1):16-34.
- Rao AV, Gurfinkel DM. The bioactivity of saponins: triterpenoid and steroidal glycosides. Drug Metabol Drug Interact. 2000;17(1-4):211-35.
- Roberts JR, Karr CJ; Council On Environmental Health. Pesticide exposure in children. Pediatrics. 2012;130(6):e1765-88.
- Rowan T. Chlebowski. Nutrition and physical activity influence on breast cancer incidence and outcome. The Breast. 2013; S30-S37.
- Shareef M, Ashraf MA, Sarfraz M. Natural cures for breast cancer treatment. Saudi Pharm J. 2016;24(3):233-240.
- Shirode AB, Bharali DJ, Nallanthighal S, Coon JK, Mousa SA, Reliene R. Nanoencapsulation of pomegranate bioactive compounds for breast cancer chemoprevention. Int J Nanomedicine. 2015;10: 475-484.
- Singh D, Chaudhuri PK. Structural characteristics, bioavailability and cardioprotective potential of saponins. Integr Med Res. 2018;7(1):33-43.
- Sinha D, Sarkar N, Biswas J, Bishayee A. Resveratrol for breast cancer prevention and therapy: Preclinical evidence and molecular mechanisms. Semin Cancer Biol. 2016;40-41:209-232.
- Sinn HP, Kreipe H. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition. Breast Care (Basel). 2013;8(2):149-154.
- Stephens RM, Yi M, Kessing B, Nissley DV, McCormick F. Tumor RAS Gene Expression Levels Are Influenced by the Mutational Status of RAS Genes and Both Upstream and Downstream RAS Pathway Genes. Cancer Inform. 2017;16:1176935117711944.
- Sung H, Ferlay J, ME, Siegel R, 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.

- Şimşek F, İnan S, Müftüoğlu S, Özbilgin K, Vatansever S, Tuğlu İ. Meme kanseri hücre hatlarında propranolol ve paklitakselin anjiyogenez üzerine etkisi. Çukurova Medikal Journal 2019;44(1):144-153.
- Tabanca N, Bedir E, Alankus-Caliskan O, Khan IA. Cycloartane triterpene glycosides from the roots of *Astragalus gilvus* Boiss. Biochemical systematics and ecology, 2005.
- Tan YQ, Chen HW, Li J. Astragaloside IV: An Effective Drug for the Treatment of Cardiovascular Diseases. Drug Des Devel Ther. 2020;14:3731-3746.
- Teoh PL, Liao M, Cheong BE. *Phyllanthus nodiflora* L. Extracts Induce Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Human Breast Cancer Cell Line, MCF-7. Nutr Cancer. 2019;71(4):668-675.
- Tessitore L, Davit A, Sarotto I, Caderni G. Resveratrol depresses the growth of colorectal aberrant crypt foci by affecting bax and p21(CIP) expression. Carcinogenesis. 2000;21(8):1619-22.
- Tian Q.E, Li H.D, Yan M, Cai H.L, Tan Q.Y, Zhang W.Y. *Astragalus* polysaccharides can regulate cytokine and P-glycoprotein expression in H22 tumor-bearing mice. World J.Gastroentero. 2012;18, 7079–7086.
- Tin MM, Cho CH, Chan K, James AE, Ko JK. *Astragalus* saponins induce growth inhibition and apoptosis in human colon cancer cells and tumor xenograft. Carcinogenesis. 2007;28(6):1347-55.
- Veronesi U, Boyle P, Goldhirsch A, Orecchia R, Viale G. Breast cancer. The Lancet. 2005; 1727-1741.
- Ünçel M, Aköz G, Yıldırım Z, Pişkin G, Değirmenci M, Kahraman D, Ayaz D, Akbulut G, Diniz G. Evaluation Of Clinicopathological Features Of Breast Cancer According To The Molecular Subtypes.2015; 25(3): 151-156
- Vincken JP, Heng L, de Groot A, Gruppen H. Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. Phytochemistry. 2007;68(3):275-97.
- Wang D, Zhuang Y, Tian Y, Thomas GN, Ying M, Tomlinson B. Study of the effects of total flavonoids of *Astragalus* on atherosclerosis formation and potential mechanisms. Oxid Med Cell Longev. 2012;2012:282383.
- Wang J, John EM, Horn-Ross PL, Ingles SA. Dietary fat, cooking fat, and breast cancer risk in a multiethnic population. Nutr Cancer. 2008;60(4):492-504.
- Wang JJ, Lei KF, Han F. Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2018;22(12):3855-3864.
- Wang P, Cui J, Du X, Yang Q, Jia C, Xiong M, Yu X, Li L, Wang W, Chen Y, Zhang T. *Panax notoginseng* saponins (PNS) inhibits breast cancer metastasis. J Ethnopharmacol. 2014;154(3):663-71.



- Wang T, Xuan X, Li M, Gao P, Zheng Y, Zang W, Zhao G. *Astragalus* saponins affect proliferation, invasion and apoptosis of gastric cancer BGC-823 cells. *Diagn Pathol*. 2013;8:179.
- Wang Y, Yu J, Cui R, Lin J, Ding X. Curcumin in Treating Breast Cancer: A Review. *J Lab Autom*. 2016;21(6):723-731.
- Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: how special are they?. *Mol Oncol*. 2010;4(3):192-208.
- Welsh PL, King MC. BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer. *Hum Mol Genet*. 2001;10(7):705-13.
- Welsh J. Animal Models for Studying Prevention and Treatment of Breast Cancer. *Animal Models for the Study of Human Disease*. 2013; 997-1018.
- WHO. An Overview Of The Evidence On Environmental And Occupational Determinants Of Cancer. 2011
- WHO. Breast Cancer Awareness Month: increased awareness, equitable access to early diagnosis and timely, effective, and affordable treatment needed globally
- Wu J, Yu J, Wang J, Zhang C, Shang K, Yao X, Cao B. *Astragalus* polysaccharide enhanced antitumor effects of Apatinib in gastric cancer AGS cells by inhibiting AKT signalling pathway. *Biomed Pharmacother*. 2018;100:176-183.
- Xing Chang, Tian Zhang, Wenjin Zhang, Zhenyu Zhao, Jiahui Sun, Natural Drugs as a Treatment Strategy for Cardiovascular Disease through the Regulation of Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020;Article ID 5430407, 20 pages.
- Xiong J, Xu Y, Zhu Q. Anti-Inflammation effects of *Radix Astragali* Plays an Important Role in Ameliorating Type 2 Diabetes Mellitus. *Glob J Obes Diabetes Metab Syndr*. 2014;1(1): 020-029.
- Xu L, Li Y, Dai Y, Peng J. Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology and mechanisms. *Pharmacol Res*. 2018;130:451-465.
- Xu XH, Li T, Fong CM, Chen X, Chen XJ, Wang YT, Huang MQ, Lu JJ. Saponins from Chinese Medicines as Anticancer Agents. *Molecules*. 2016;21(10):1326.
- Xuan H, Li Z, Yan H, Sang Q, Wang K, He Q, Wang Y, Hu F. Antitumor Activity of Chinese Propolis in Human Breast Cancer MCF-7 and MDA-MB-231 Cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014;11 pages.
- Sun Y. Q, Jiang A. L, Chen S. M, Li H, Xing H. Y, Wang F. Quality of life and self-care in elderly patients with cardiovascular diseases: the effect of a Traditional Chinese Medicine health educational intervention. *Applied Nursing Research*. 2017;pp. 134–140.
- Yalcin B. Staging, risk assessment and screening of breast cancer. *Exp Oncol*. 2013;35(4):238-45.

- Yamamoto S, Sobue T, Kobayashi M, Sasaki S, Tsugane S; Japan Public Health Center-Based Prospective Study on Cancer Cardiovascular Diseases Group. Soy, isoflavones, and breast cancer risk in Japan. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(12):906-13.
- Yang S, Sun S, Xu W, Yu B, Wang G, Wang H. *Astragalus* polysaccharide inhibits breast cancer cell migration and invasion by regulating epithelial-mesenchymal transition via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2020;21(4):1819-1832.
- Yang S, Sun S, Xu W, Yu B, Wang G, Wang H. *Astragalus* polysaccharide inhibits breast cancer cell migration and invasion by regulating epithelial-mesenchymal transition via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2020;21(4):1819-1832.
- Yang TJ, Ho AY. Radiation therapy in the management of breast cancer. *Surg Clin North Am.* 2013;93(2):455-71.
- Yazıcıoğlu I, Ceylaner B, Turna S, Kaşıkçı H. Kanserde Hedefe Yönelik Monoklonal Antikor Tedavisi. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 1.2018; 95-102
- Yedjou C, Izevbigie E, Tchounwou P. Preclinical assessment of vernonia amygdalina leaf extracts as DNA damaging anti-cancer agent in the management of breast cancer. *Int J Environ Res Public Health.* 2008;5(5):337-41.
- Yıldırım N, Aldemir M, Şimşek M, Bilic M, Tekin S. Rare Breast Malignancies. *Med JBakirkoy.*2019;15(3): 232239
- Yin SY, Wei WC, Jian FY, Yang NS. Therapeutic applications of herbal medicines for cancer patients. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2013;2013:302426.
- Yusufoglu HS, Alam A, Zaghoul AM, Al-salkini MA, Alam P. Comparative anti-inflammatory and hepatoprotective activities of *Astragalus gummifer* Labill herb and roots in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2014;11(3):268-74.
- Zhang Q, Kang X, Zhao W. Antiangiogenic effect of low-dose cyclophosphamide combined with ginsenoside Rg3 on Lewis lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 342(3):824-8.
- Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin.* 2007;45(2):27-37.
- Zhou Y, Prieto C.G, Carney D.A, Xu R, Pelicano H, Kang Y, Yu W, Lou C, Kondo S, Liu j, Harris D.M, Estrov Z, Keating M.J, Jin Z, Huang P. OWS-1: a natural compound with anticancer activity and a novel mechanism of action. *Journal of the National Cancer Institute.* 2005;97(23), 1781-1785.
- Zhu G. Role of traditional medicine *Astragalus membranaceus* in the treatment of nephritis (10 cases). *Radiol Diagn Imaging* 2(2018).
- Zou F, Mao XQ, Wang N, Liu J, Ou-Yang JP. *Astragalus* polysaccharides alleviates glucose toxicity and restores glucose homeostasis in diabetic states via activation of AMPK. *Acta Pharmacol Sin.* 2009;30(12):1607-15.