

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MEME KANSERİ TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE
GENİSTEİN YÜKLÜ NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE İN
VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

Gamze Melike BAKAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Danışman

Doç. Dr. Ayşegül ERDEMİR ÜSTÜNDAĞ

Şubat, 2023

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MEME KANSERİ TEDAVİSİNDE KULLANILMAK ÜZERE GENİSTEİN
YÜKLÜ NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE İN VİTRO
DEĞERLENDİRİLMESİ

Gamze Melike BAKAR tarafından hazırlanan tez çalışması 08.02.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ayşegül ERDEMİR ÜSTÜNDAĞ
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ayşegül ERDEMİR ÜSTÜNDAĞ, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Banu MANSUROĞLU, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Kadriye KIZILBEY, Üye
İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Danışmanım Doç. Dr. Ayşegül ERDEMİR ÜSTÜNDAĞ sorumluluğunda tarafımda hazırlanan "Meme Kanseri Tedavisinde Kullanılmak Üzere Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Sentezi ve in vitro Değerlendirilmesi" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Gamze Melike BAKAR

İmza



Aileme,

TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç. Dr. Ayşegül ERDEMİR'e bu çalışmada yer almamı sağladığı, bana destek olduğu, hayata olumlu bakmama yardım ettiği ve yol gösterdiği için en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasının her aşamasında bana yardımcı olan, her zaman yardımcı olmaya hazır, yüksek lisansın bana kattığı en güzel dostluk için doktora öğrencisi Cansu TATAR'a, çalışma boyunca bana yardım eden Arş. Görevlisi Fatma Şayan KORKMAZ ve Aysu SALBAŞ'a teşekkür ederim.

Her şeyden önce, hayatım boyunca her zaman desteklerini esirgemeyen, her aşamada benim yanımda olan, seçimlerime güvenen annem ve babam Kıymet ve Tamer BAKAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Son olarak biricik kardeşim Pınar Yasemin BAKAR'a bitmeyen sevgisi ve desteği için çok teşekkür ederim. Ailem yanımda olmadan bu günlere gelmeyi hayal bile edemiyorum. Hayatıma güzellik katan, bana inanan arkadaşlarım Sevdener BOZBAY'a, Şule GÜNEYATAN'a ve Hümeysra ÖNER'e teşekkür ederim. Hayatıma çok geç dahil olan ama beni her kararında destekleyen, bana inanan Cansu GÖZ'e ve Ella PIORONEN'e ayrıca teşekkür ederim. Beni çok mutlu eden sonsuz sevgisi ve desteği ile devam etmemi sağlayan yol arkadaşım Can ADIYAMAN'a çok teşekkür ederim.

Beni ben yapan, yolumun kesiştiği herkese bana kattıkları için sonsuz teşekkürler.

Gamze Melike BAKAR

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı	2
1.3 Hipotez	2
2 GENEL BİLGİLER	4
2.1 Kanser.....	4
2.2 Meme Kanseri	6
2.3 Meme Kanseri Tanı ve Tedavisi.....	9
2.4 Flavonoidler	17
2.5 Genistein.....	22
2.6 Genisteinin Meme Kanseri Üzerinde Etkileri	23
2.7 Kanser ve Nanopartiküller.....	24
2.8 Polimerik Nanopartiküller	27
2.9 Meme Kanseri Tedavisinde Nanopartiküller	28
3 MATERYAL VE YÖNTEM	30
3.1 Materyal.....	30
3.2 Yöntem	33
4 BULGULAR VE TARTIŞMA	41
4.1 Genistein Moleküllerine Ait UV-Vis Spektrumları ve Kalibrasyon Eğrileri.....	41
4.2 Genistein Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Sentezi	42
4.3 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Reaksiyon Verimi, Enkapsülasyon Etkinliği ve Etmene Madde Yükleme Verisi.....	43
4.4 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	44
4.5 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin In Vitro Salım Analizi.....	47
4.6 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin In Vitro Aktiviteleri	49
5 SONUÇ VE ÖNERİLER	53

KAYNAKÇA

55

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

72



SİMGE LİSTESİ

A	Amper
rpm	Dakikada Dönme Hızı
°C	Derece Santigrat
g	Gram
κ	Kappa
L	Litre
μg	Mikrogram
μl	Mikrolitre
μm	Mikrometre
μM	Mikromolar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mV	Milivolt
M	Molar
nm	Nanometre
h	Saat
cm	Santimetre
W	Watt
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

AI	Aromataz İnhibitörü
ATR	Attenuated Total Reflectance
Bax	Bcl2 ile İlişkili X Proteini
Bcl-2	B Hücreli Lenfoma 2
BRCA1	Meme Kanseri 1
BRCA2	Meme Kanseri 2
CDH1	Cadherin 1
CO ₂	Karbondioksit
DCM	Diklorometan
DDS	İlaç Taşıyıcı Sistem
DF	Dilüsyon Faktörü
DL	Etkin Madde Yüklenme Verimi
DMEM	Dulbecco's Medified Eagle Medium
DMSO	Dimetilsülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
EE	Enkapsülasyon Etkinliği
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
EMT	Epitel Hücreden Mezenkimal Hücreye Geçiş
ER	Östrojen Reseptörü
ERK 1/2	Hücre Dışı Sinyalle Düzenlenen Kinaz 1/2
FBS	Fetal Sığır Serumumu
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FT-IR	Fourier Transform Infrared
Gen	Genistein
GenNP	Genistein Yüklü PLGA Nanopartikülü
GnRH	Gonadotropin Salgılayan Hormon
HCl	Hidroklorik asit
HER2	İnsan Epiderman Büyüme Faktörü Reseptörü 2

IC ₅₀	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyon
KKMM	Kendi Kendine Meme Muayenesi
KMM	Klinikte Meme Muayenesi
LA	Laktik asit
LH	Luteinizan Hormon
MAPK	Mitojenle Aktivite Olan Protein Kinaz
MCF-7	Meme Hücrelerinin Luminal Epitelyal Fenotipi
MG	Mamografi
MTT	3-(4,5-dimetiltriazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
NFκB	Nüklear Faktör Kappa B
NP	Nanopartikül
PBS	Phosphate Buffered Saline
P15	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör Proteini
P16	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü
P21	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü 1A
P27	Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitörü 1B
P53	Tümör Proteini
PALB2	BRCA2 Ortağı ve Yerini Belirleyicisi
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDI	Çoklu Dağılım İndeksi
PGA	Poliglikolik asit
pH	Potansiyel Hidrojen
PI3K/Akt	Fosfonoid 3-kinaz/Akt
PLA	Polilaktik Asit
PLGA	Polilaktik-ko-glikolik Asit
PR	Progesteron Reseptörü
PTEN	Protein Tirozin Fosfataz ve Tensin Homoloğu
PVA	Polivinil Alkol
RV	Reaksiyon Verimi

SD	Standart Sapma
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SERM	Seçici Anti-östrojen Reseptör Modülatörü
TNBC	Triple Negatif Meme Kanseri
UV	Ultra Violet
UV-Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık
WHO	Dünya Sağlık Teşkilatı



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Tüm yaş gruplarından erkekler arasında en sık görülen çeşitli kanserlerin yüzde dağılımları.....	5
Şekil 2.2	Tüm yaş gruplarından kadınlar arasında en sık görülen çeşitli kanserlerin yüzde dağılımları.....	5
Şekil 2.3	Meme Anatomisi	7
Şekil 2.4	Sırasıyla meme kanserinin moleküler alt türleri olan Luminal A, Luminal B, HER2 pozitif ve Bazal benzeri (Triple negatif) tümörlerin histolojik görüntüleri	8
Şekil 2.5	Meme Kanserinin Uyarıcı Belirtileri.....	10
Şekil 2.6	Beş temel flavonoid yapıları ve buldukları bazı besin maddeleri ..	21
Şekil 2.7	Genisteinin kimyasal yapısı.	22
Şekil 2.8	Nanoküre ve nanokapsül yapıları	27
Şekil 2.9	PLGA yapısı.....	28
Şekil 3.1	Tekli emülsiyon w/o çözücü evaporasyon yöntemi ile GenNP üretimi.....	34
Şekil 4.1	Genistein molekülünün kalibrasyon eğrisi.....	41
Şekil 4.2	Genistein molekülü 0.001 mg/ml konsantrasyonundaki UV-Vis Spektrumu	42
Şekil 4.3	GenNP'nin boyut dağılım analizi	45
Şekil 4.4	GenNP'ye ait zeta potansiyeli grafiği	46
Şekil 4.5	GenNP'ye ait FT-IR spektrumu	46
Şekil 4.6	Genistein, PLGA ve GenNP'ye ait FT-IR spektrumları	47
Şekil 4.7	GenNP'ye ait pH:7,4 ortamda kümülatif salım grafiği	48
Şekil 4.8	GenNP'ye ait pH:5,5 ortamda kümülatif salım grafiği	48
Şekil 4.9	MCF-7 hücrelerinin invert mikroskop görüntüleri	49
Şekil 4.10	MCF-7 hücrelerine 48 saat boyunca uygulanan Genistein ve GenNP'nin hücre canlılığına etkisi.....	50
Şekil 4.11	MCF-7 meme kanseri hücrelerinde Genistein ve GenNP'nin hücre göçü üzerine etkisi	52

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1	Meme kanserinin moleküler alt türlerinin özellikleri.....	9
Tablo 3.1	Kullanılan Cihazlar	30
Tablo 3.2	Kullanılan Sarf Malzemeler	31
Tablo 3.3	Nanopartikül Sentezi için Kullanılan Kimyasal Malzemeler.....	31
Tablo 3.4	Hücre Kültürü için Kullanılan Kimyasal Malzemeler	32
Tablo 3.5	İnsan meme kanseri hücre hattının özellikleri.....	37
Tablo 4.1	MCF-7 meme kanseri hücrelerinde Genistein ve GenNP'nin hücre göçü üzerine etkisinin kümülatif % yara kapanma oranları.....	51

Meme Kanseri Tedavisinde Kullanılmak Üzere Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Sentezi ve in vitro Değerlendirilmesi

Gamze Melike BAKAR

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayşegül ERDEMİR ÜSTÜNDAĞ

Meme kanseri kadınlar arasında en sık görülen kanser türü olarak bilinmektedir. Meme kanserini tedavi etmek için çeşitli geleneksel yöntemler bulunsa da bu yöntemlerin birçok zararlı yan etkileri bulunmaktadır. Bu sebepten dolayı kanser tedavisi için flavonoid kullanımı gibi daha doğal yöntemler aranmaktadır. Anti-kanser etkisi bulunduğu çeşitli deneylerde gözlemlenmiş olan flavonoidler, meyve ve sebzelerde doğal olarak bulunan çeşitli kimyasallardır. Soya ürünlerinde bolca bulunan genistein flavonoid ailesinin bir üyesidir ve kanseri azaltıcı etkisi, özellikle meme kanseri üzerinde yapılan çok sayıda çalışmada gözlemlenmiştir. Ancak genisteinin suda çözünürlüğü çok düşük olması gibi bir dezavantajı bulunmaktadır. Bu durumdan dolayı ilaç olarak işlev görmesi için çok yüksek miktarlarda kullanılması ya da çeşitli yöntemlerle çözünürlüğünün artırılması gereklidir. Bu tez çalışması ile genisteinin çözünürlüğünü artırmak için polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) polimeri kullanılarak genistein enkapsüle edildi. Genistein yüklü PLGA nanopartikülleri (GenNP) üretilmesi için tekli emülsiyon (o/w) çözücü buharlaştırma yöntemi kullanıldı. Üretilen nanopartiküllerin partikül boyutunu,

boyut dağılım indeksini (PDI) ve zeta potansiyel değerlerini belirlemek için Zetasizer Nano ZS kullanıldı. Nanopartiküllerin yüzeyindeki fonksiyonel grupları incelemek amacıyla Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi kullanıldı. Fizikokimyasal değerlendirme sonucunda ortalama GenNP boyutu $144,4 \pm 6,28$ nm, PDI değeri $0,194 \pm 0,014$ ve zeta potansiyeli $-31,466 \pm 1,05$ mV olarak belirlendi. FT-IR spektroskopisinden elde edilen sonuçlara göre oluşan nanopartiküller PLGA özellikleri taşımaktadır ve genisteinin enkapsüle edilmesi etkin bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Üretilen nanopartikül kapsülleme verimi %23,3, ilaç yükleme kapasitesi %13,86 olarak hesaplandı. GenNP'lerin ve genisteinin, MCF-7 hücre hattında oluşturduğu sitotoksik aktivite MTT ile belirlendi. MCF-7 hücrelerine farklı konsantrasyonlarda uygulanan genistein ve GenNP'nin 48 saat inkübasyon süresi sonrasında IC_{50} değerleri serbest genistein için $5,924 \mu\text{g/ml}$ ve GenNP için $3,784 \mu\text{g/ml}$ olarak saptandı. Aynı zamanda, genisteinin ve GenNP'lerin, MCF-7 hücreleri üzerindeki hücre göçüne etkisi incelendi. 48 saatlik sürecin sonunda kontrol grubunda %89, sadece genistein verilen grupta %65 ve GenNP verilen grupta ise %57 oranında bir yara kapanması gözlemlendi. Bu durum GenNP'lerin genisteinin etkisini artırarak hücre göçünü azalttığını ortaya koymuştur.

Bu tez çalışması ile meme kanserine karşı kullanılan klasik yöntemlere göre daha düşük sitotoksikite elde edilmiş, genisteinin çözünürlüğü artırılarak meme kanserine karşı daha etkili olması sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Genistein, meme kanseri, nanopartikül, anti-tümör etki

Synthesis and In Vitro Evaluation of Genistein-Loaded Nanoparticles for Breast Cancer Treatment

Gamze Melike BAKAR

Department of Molecular Biology and Genetics

Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Ayşegül ERDEMİR ÜSTÜNDAĞ

Among the women around the world, breast cancer is the most common cancer type. Even though there are conventional methods that are available to treat breast cancer, they have a number of negative side effects. For these reasons, more natural cancer treatments, such as flavonoids, are being sought. Flavonoids are a type of chemicals found naturally in vegetables and fruits that has been linked to prevention and treatment of various cancer. Genistein, found in soy products, is one of these flavonoids that has been shown in numerous studies to reduce cancer risk, particularly in breast cancer. Be that as it may, due to its exceptionally low solubility, exceptionally expansive sums of natural product are required to get a few flavonoids that can be utilized as a medication. In this thesis project, genistein was injected into poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) nanoparticles to increase genistein solubility. Single emulsion (o/w) solvent evaporation method is used to produce genistein-loaded PLGA nanoparticles (GenNP). The particle size, size distribution index (PDI), and zeta potential values of the generated nanoparticles were determined using the Zetasizer Nano ZS. The functional groups on the surface of nanoparticles were investigated using FT-IR spectroscopy. The mean size of GenNP was determined by physicochemical analysis to be 144,466,28 nm,

the PDI value was 0.1940,014, and the zeta potential was -31,4661,05 mV. The encapsulation efficiency of the produced nanoparticles was found to be 23,3%, and the drug loading capacity was determined to be 13,86%. Furthermore, FT-IR spectroscopy demonstrates that the formed nanoparticles have PLGA properties and that genistein encapsulation is effective. MTT was used to test the cytotoxicity of GenNPs and genistein in the MCF-7 cell line. After 48 hours of incubation, the IC50 values of genistein and GenNP applied to MCF-7 cells at different concentrations were determined to be 5,924 g/ml and 3,784 g/ml, respectively. Cell migration in MCF-7 cells was studied using genistein and GenNPs. Wound healing rates of 89% in the control group, 65% in the group given only genistein, and 57% in the group given GenNP were determined after 48 hours. This demonstrated that GenNPs increased the effect of genistein while decreasing cell migration.

When compared to traditional methods for treating breast cancer, this thesis achieved lower cytotoxicity. By increasing its solubility, genistein became more effective against breast cancer.

Keywords: Genistein, nanoparticles, breast cancer, anti-cancer effect

1.1 Literatür Özeti

Kanser dünya çapında meydana gelen ölümlerin en büyük ikinci sebebidir ve sebep olduğu yıkım gitgide artmaktadır [1]. Meme kanseri ise Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) verilerine göre kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Sebepleri tam olarak bilinmese de risk faktörleri arasında aile geçmişi ve kişinin boyu, adet döngüsü, hormon seviyeleri gibi özelliklerini kapsayan genetik faktörler, doğurma yaşı ve sıklığı, emzirme, hormonal doğum kontrolü gibi özellikleri kapsayan üreme faktörleri, içerisinde bireyin kilo alımını, fiziksel aktivitelerini, yeme alışkanlıklarını, alkol ve sigara kullanımını ele alan yaşam tarzı ve radyasyon gibi çevresel faktörler yer almaktadır [2], [3]. Meme kanseri için ameliyat, kemoterapi ve radyoterapi gibi çeşitli geleneksel tedaviler kullanılmaktadır fakat bunların birçok yan etkisi bulunmaktadır. Radyoterapi ciltte reaksiyon oluşturarak tahriş ve kızarıklığa sebep olurken, kemoterapi saç dökülmesi, yorgunluk, kusma, ağrı, ishal gibi bireylerin yaşam kalitesini oldukça düşüren yan etkilere sebep olmaktadır. Meme kanserinde yapılan mastektomi, yani cerrahi yolla memenin tamamen ya da bir kısmının alınması enfeksiyon, ağrı ve rahatsızlık hissi gibi yan etkilere sebep olmaktadır. Bu güçlü yan etkilerden dolayı daha az seviyede toksisite ile daha az yan etkiye sahip başka yöntemler aranmaktadır [4]. Flavonoidler, çeşitli bitkilerde ve yemek türevlerinde çeşitli miktarda bulunan doğal kaynaklı yapılardır. Alt türleri arasında izoflavonlar, flavonoller, flavonoidler, flavonlar, flavonoller, antosininler ve kankonlardır bulunmaktadır. Birçok türünün anti-kanser etkiye sahip olduğu bilinmektedir [5]. Anti-kanser etkiye sahip flavonoid alt türlerinden biri de izoflavonlar alt türüne ait soya ve ürünlerinde bol bulunan genisteindir [6]. Ancak genisteinin oral uygulamada çok yetersiz kalması, metabolizmadan hızlı atılması ve suda düşük çözünürlüğe sahip olması gibi çeşitli dezavantajlara da sahip olması onu kansere karşı tedavide yetersiz kılmaktadır. Bu amaçla genisteinin dezavantajlarını ortadan kaldıracak

bir yöntem geliştirilmesi gerekmektedir. Sahip oldukları yüksek biyoyumluluk, programlanabilir dış yüzeyi ile hedefleme imkanı sağlama, yüksek seviyelerde anti-kanser ilaç taşıyabilme gibi özelliklerle, 1 ile 100 nm arasında değişen küçük moleküller olan nanopartiküller bu konuda olumlu sonuçlar vermektedir [7].

1.2 Tezin Amacı

Önerilen tez çalışmasının amacı genistein moleküllerinin poli(laktik asit-koglikolik asit) (PLGA) nanopartiküler sistem içerisine enkapsüle edilmesi ve insan meme kanseri MCF-7 hücre hattı üzerindeki hücresel etkilerinin tespit edilmesidir. Serbest genisteinin ve nanopartiküler sistemde enkapsüle edilmiş genisteinin sitotoksik, antiproliferatif ve anti-migrasyon etkilerinin karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Meme kanseri için kullanılan geleneksel yöntemlerin çok sayıda yan etkisinin bulunması büyük problemdir ve hastaların hayat kalitesini oldukça düşürmektedir. Bu sebeple meme kanseri tedavisinde yeni moleküllerinin anti-kanser aktivitesinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Genistein gibi flavonoidler tamamen doğal olarak bitkilerde bulunmaktadır, doğal olması sebebiyle canlılarda kullanıldığında yan etkileri çok az olmaktadır ve biyoyumludurlar. Genisteinin oral yollu kullanımında, genistein de çoğu besin gibi kana karışarak kan yoluyla vücuda dağılmaktadır. Bu durum genisteini hedef bölgeye yönelik değil tüm vücuda yayılan bir madde yapmaktadır. Bu da kanserli doku üzerinde etki elde etmek için çok daha fazla genistein kullanılması gerekliliğini ortaya çıkarmaktadır. Bu sebeple genisteinin nanoparçacıklara konularak belirli bölgelere hedef alınarak kullanılması etkinliğini arttırmak için çözüm oluşturabilecektir. Fakat genistein suda düşük çözünürlüğe sahip olması anti-kanser etkisini çok az seviyede gözlemlenmesine neden olmaktadır. Bu durum genistein molekülleri daha polar olacak şekilde modifiye etmekle çözümlenebilir fakat bu durumun oluşturacağı toksisite de araştırılmalıdır. Bunun dışında yine nanoparçacıklar kullanılarak genisteine ait çözünürlüğün artırılması hedeflenmektedir. Bu çalışmada genisteinin nanopartiküler sistem içerisine enkapsüle edilerek, çözünürlüğünün

artacağı ve beraberinde anti-kanser etkisinin de artarak meme kanseri tedavisinde kullanıma katkı sağlayacağı dűşünülmektedir.



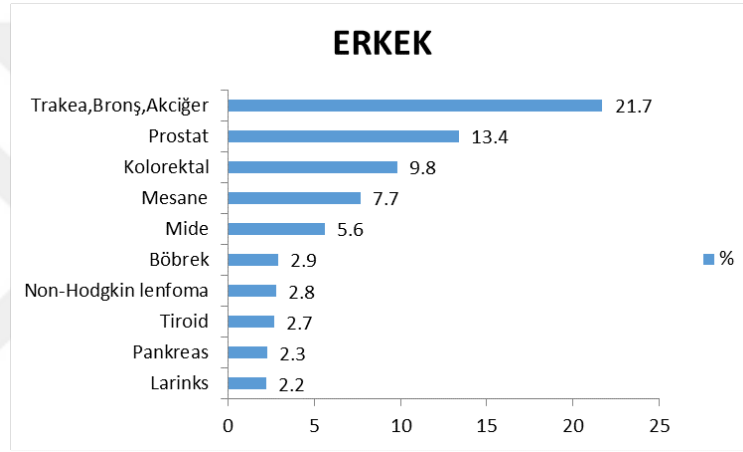
2.1 Kanser

Kanser, genlerde bir dizi mutasyon oluşması sonucu ortaya çıkan hücrenin fonksiyonlarını değiştirerek kontrolsüz büyümesine ve çoğalmasına sebep olan bir hastalıktır. Kanseler, vücudun hangi dokusunda görülürse, ismini oradan almaktadır. Buna bağılı olarak çok çeşitli dokularda görülen 177'den fazla kanser türü bilinmektedir [8].

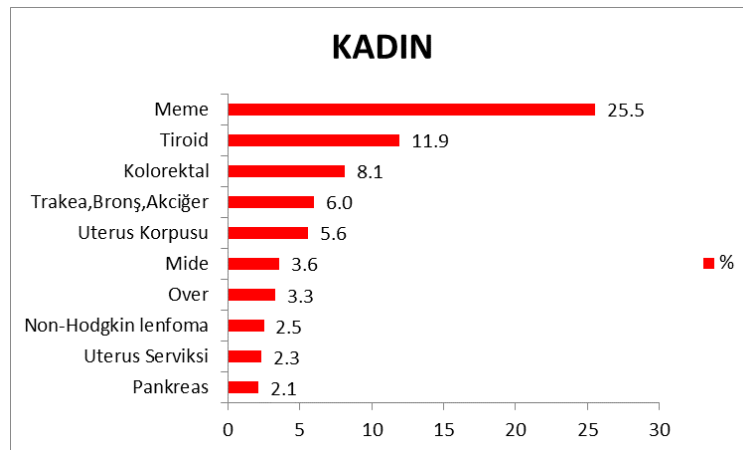
Kanser hücrelerini diğler hücrelerden ayıran sekiz tane temel özellik vardır. Kanser hücrelerinin hücre ölümüne direnmesi, sonsuz bölünme kapasitesi olması, proliferatif sinyalleri sürdürebilmesi, büyüme baskılayıcılara karşı gösterdiği direnç, anjiyogenez ile yakındaki damar sistemlerine erişim sağlaması, doku invazyonu ve metastazı aktive edebilmesi, hücrenel metabolizmayı kendi ihtiyaçlarına göre yeniden programlayabilmesi ve son olarak ise hücrenin tepki olarak oluşturduğu bağışıklık yıkımından kaçınabilmesi bu sekiz yetenektir. Oluşan kanser hücreleri benign veya malign türünde tümörler oluşturabilirler. [9], [10]. Benign tümörler lokal olarak sadece oluştukları yerde kaldıkları ve yayılmadıkları için tamamen kurtulunması genellikle mümkündür. Malign tümörler ise çevredeki dokulara yayılma eğilimi gösterirler. Kan ve lenf dolaşım sistemlerine girerek metastaz yaparlar. Yayıldıkça da tedavisi o kadar zorlaşır. Bu sınıflandırmanın dışında kanserler ortaya çıktığı dokuya göre karsinoma ve sarkoma olarak sınıflandırılırlar. Karsinomalar epitel dokuda oluşan kanserlerken, sarkomalar bağı ve kas dokuda oluşurlar. Karsinomların görülme sıklığı sarkomalara oranla daha fazladır. Lenfoma gibi bu iki türe uymayan kanser çeşitleri de bulunmaktadır. Bunlar beyaz kan hücrelerinden türemektedir [10].

Aynı zamanda kanser, dünya çapında meydana gelen ölümlerin en önde gelen sebepleri arasında ikinci sırada yer almaktadır. Cinsiyet fark etmeksizin

bakıldığında akciğer, mide, karaciğer, meme ve kolon kanserleri en sık görülen ve en çok ölüme sebep olan kanser türleri arasındadır. Sadece kadınlar ele alındığında ise meme kanseri en sık görülen kanser türü olmanın yanı sıra öldürücülükte de ikinci sırada yer almaktadır [8], [11], [12]. Şekil 2.1 ve Şekil 2.2' gösterilen Şekillerde, Türkiye Birleşik Veri Tabanı'ndan alınan 2017 verilerine göre oluşturulmuş tüm yaş gruplarındaki erkekler ve kadınlar ayrı olmak üzere aralarında en sık görülen bazı kanserlerin yüzde dağılımları verilmiştir. Bu verilere göre Türkiye'de erkekler arasında en çok görülen kanser türleri toplam %45,1 oran ile akciğer ve prostat kanserleri iken, kadınlar arasında en çok gözlemlenen kanser türleri toplam %37,4 oran ile meme ve tiroit kanserleridir.



Şekil 2.1 Tüm yaş gruplarından erkekler arasında en sık görülen çeşitli kanserlerin yüzde dağılımları [13]



Şekil 2.2 Tüm yaş gruplarından kadınlar arasında en sık görülen çeşitli kanserlerin yüzde dağılımları [13]

Kanser çeşitli sebeplerden dolayı meydana gelebilmektedir. Çeşitli kimyasal maddeler bu sebepler arasında yer almaktadır; örneğin sigara içen bireylerin akciğerlerinde benzopiren adlı bir kimyasalın biriktiği, bu kimyasalın da DNA'nın yapısında yer alan guanine bağlandığı rapor edilmiştir. Timin olarak algılanan benzopirenin karşısına sitozin yerine adenin bazı gelerek DNA'da mutasyona sebep olur. Bu mutasyonlar sebebiyle de akciğer hücrelerinde tümör oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir [14]. Çevresel kimyasal maddelerin doğrudan ya da dolaylı olarak genlerde mutasyona neden olduğu ve bundan kaynaklı olarak ise kanser dahil çeşitli hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir. Virüsler, bakteriler ve radyasyon da kansere sebep olan faktörler arasında yer almaktadır [8], [15].

Kansere etki eden faktörler ne olursa olsun oluştuğunda hücrenin hayati genlerinin işlevlerinde bozukluklara sebep olmaktadır. Bunu da çeşitli mekanizmaları devre dışı bırakarak ya da bazı mekanizmaların çok daha fazla eksprese olmasını sağlayarak gerçekleştirmektedir. Proto-onkogenler, normal koşullar altında hücre bölünmesini ve büyümesini kontrol ederek düzenleyen yapılar, kanser hücrelerinde genetik mutasyona uğrayarak onkogen haline gelerek fazlaca eksprese edilirler. Böylece kanser hücrelerinin kontrolsüzce büyümesine ve bölünmesine olanak sağlarlar. Meme Kanseri İnsanın Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2; HER2) geni normalde proto-onkogen olan ama meme kanseri hücrelerinde çok fazla eksprese edilerek hücre yüzeyinde çok fazla HER2 reseptörü oluşmasına sebep olan ve sonucunda da kontrolsüz hücre bölünmesine ve karsinogeneze neden olan onkogenlerden biridir. Onkogenlerin yanı sıra, çoğu kanser hücrelerinde P15, P16, P21, P27 ve P53 gibi normalde tümör baskılayıcı olan genler baskılanarak eksprese olmasını engellenmektedir ve yokluğunda kontrolsüz hücre bölünmesine sebep olmaktadır [8], [16].

2.2 Meme Kanseri

Meme kanseri, dünyada olduğu gibi Türkiye'deki kadınlar arasında en sık görülen kanser türüdür. Şekil 2.2'de gösterilmiş olduğu gibi 25,5'lik bir yüzdeyle Türkiye kanser sıralamasında kadınlar arasında en çok görülen kanser [13]. Çalışmalar gösteriyor ki her sekiz kadın arasından birinin meme kanseri riski bulunmakta.

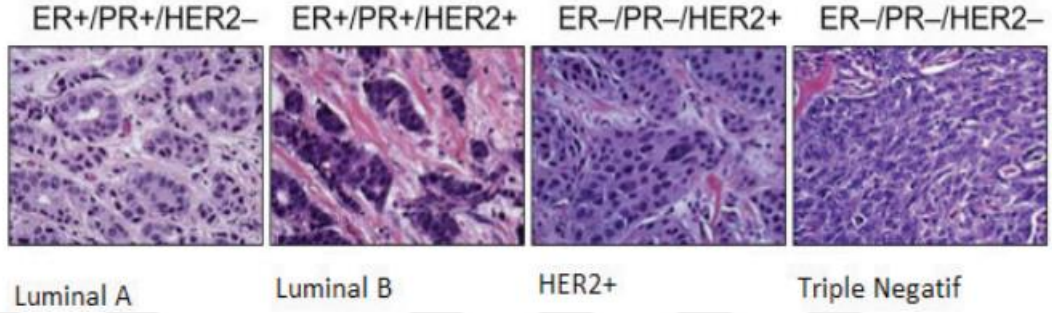
Kansere yakalanma riskinin yanı sıra, meme kanseri, kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerindedir [17], [18].

Meme kanseri hem genetik hem çevresel olmak üzere birçok sebepten kaynaklanabilir. Genetik olarak aile geçmişi meme kanserinde önemlidir, örneğin BRCA1, BRCA2, PALB2, p53, RAD51C, CDH1 ve PTEN gibi gen mutasyonları daha önce aile geçmişinde varsa daha sık görülmektedir. Aynı zamanda kişilerin boyu, erken yaşta başlayan regl döngüleri, meme dokusu yoğunluğu gibi bireysel faktörlerde meme kanseri riskini değiştirmektedir. Yaşam tarzı da meme kanseri üzerinde etkilidir. Örneğin obezite ve kilo alımı, yağ dokusu en büyük östrojen kaynağı olduğu için menopoz sonrası meme kanser riskini arttırmaktadır. Çok egzersiz yapan bireylerde meme kanseri görülme riski daha az iken sigara ve alkol kullanan bireylerde risk artmaktadır. Aynı zamanda diyetle meme kanserinde etkilidir, örneğin soya gıda ürünlerini erken yaşta başlayarak düzenli olarak tüketen bireylerde meme kanseri daha az görülmektedir. [3], [19], [20]. Tam tersi Batı tipi yüksek yağlı gıdaların tüketilmesi ise riski arttırmaktadır [21]. Bunların yanı sıra 35 yaşından önce doğum yapmak riski azaltırken, hiç çocuk sahibi olmamak riski arttırmaktadır. Emzirmemek, uzun süre boyunca oral yollu kontraseptif kullanımı gibi faktörler de risk oluşturmaktadır. Geç menopoz, 55 yaşından sonra, daha uzun süre östrojen ve progesterona maruz kaldıkları için riski arttırmaktadır. Radyasyon, çevresel kirlilik, geç saatlerde kadar çalışmak gibi çevresel faktörler de meme kanseri riskini arttırmaktadır [3], [19], [20]. Bilindiği gibi meme kanseri kadınlarda erkeklerden daha sık görülmektedir. Bu durumda cinsiyetin kadın olması dahi riski arttıran bir faktördür [20].



Şekil 2.3 Meme Anatomisi [22]

Meme kanseri türleri çok çeşitlidir. Öncelikle memenin farklı dokularında ortaya çıkabileceği bilinmelidir. Çıkabileceği dokular arasında lobüller yani süt bezleri, duktuslar yani lobüllerden üretilen sütü meme ucuna taşıyan kanallar ve bunların arasında kalan tüm dokular bulunmaktadır [20], [23]. **Şekil 2.3**'te 3 numaralı doku lobülleri, 6 numaralı doku duktusları göstermektedir [22].



Şekil 2.4 Sırasıyla meme kanserinin moleküler alt türleri olan Luminal A, Luminal B, HER2 pozitif ve Bazal benzeri (Triple negatif) tümörlerin histolojik görüntüleri [19]

Histolojik olarak meme kanseri de ikiye ayrılır bunlardan meme epitelinde görülenler karsinoma iken memedeki diğer dokularda oluşana ise sarkomalar denmektedir. Karsinomalar 5 farklı alt gruba ayrılmaktadır. Bu ayırım 3 farklı reseptöre bakılarak yapılmaktadır. Bu üç reseptör östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve son olarak ise insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2)'dir. **Tablo 2.1** bu alt türler ve özellikleri verilmiştir. Bunlara bakılarak oluşturulan 5 sınıftan ilki Luminal A ve B olarak sınıflandırılmaktadır, bu sınıf meme kanserinde ER pozitif tümörler oluşmaktadır [3]. Luminal A tipindeki tümörler görülen meme kanseri vakalarının %50-60'ını oluşturmaktadır [20]. İkincisi ise HER2 pozitifdir. Adından anlaşıldığı gibi HER2 geni fazla ekspresyona uğrar. Üçüncüsü normal benzeri olarak adlandırılır. Bu sınıftaki tümörler normal-sağlıklı meme kanseri hücrelerine benzedikleri için bu şekilde adlandırılmışlardır. Dördüncü sınıf bazal-benzeri olarak adlandırılırlar, bu tip tümörler 'triple negatif meme kanseri (TNBC)' olarak da adlandırılırlar [3], [19], [20]. Yaş olarak daha genç ve Afrika Amerika kökenli bireylerde daha çok rastlanılmaktadır. En agresif türlerden bir tanesi olarak görülmektedir. [24]–[26].

Son tür ise klaudin düşüktür. Bu tip tümörlerde epitel hücreden mezenkimal hücreye geçiş (EMT) görülmektedir [3], [19], [25].

Tablo 2.1 Meme kanserinin moleküler alt türlerinin özellikleri [20]

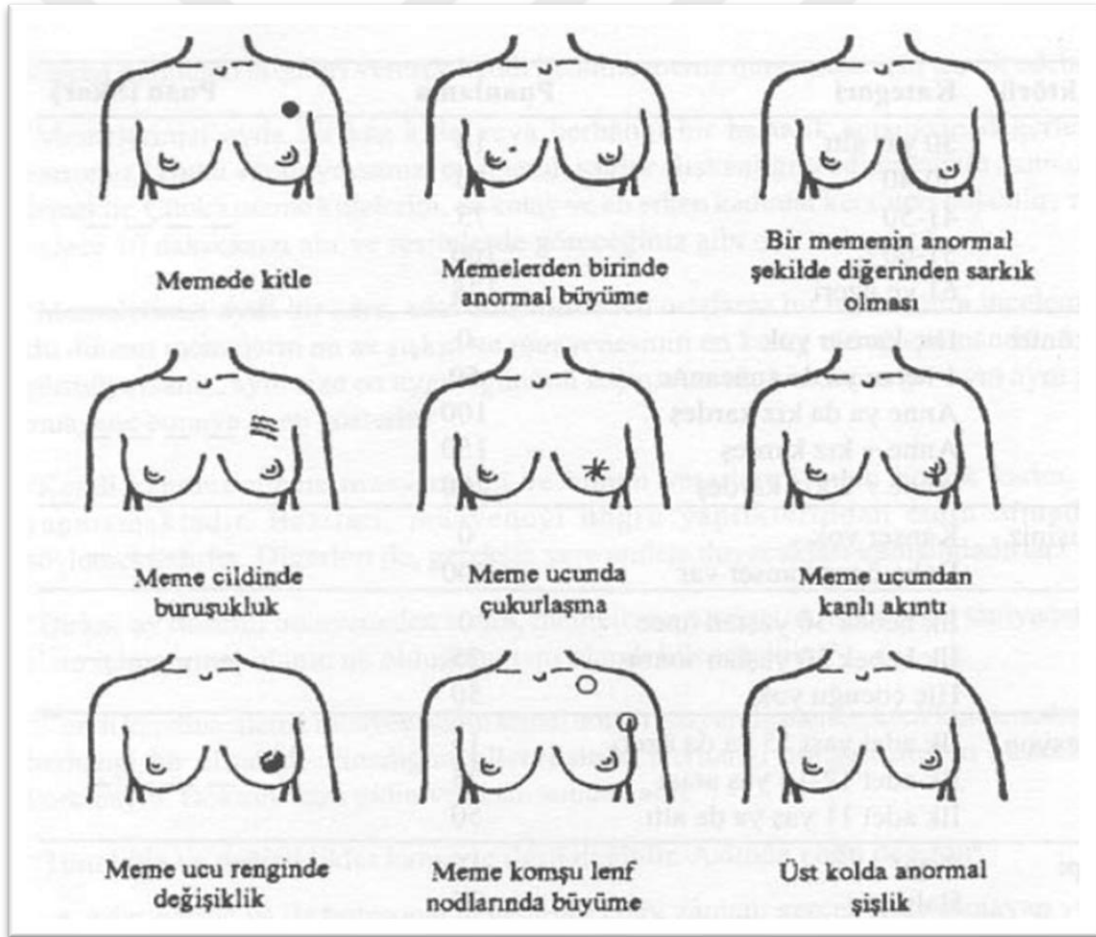
Moleküler Alt Tip	Görülme Sıklığı	ER/PR/HER2
Luminal A	50-60%	ER+ PR+ HER2-
Luminal B	10-20%	ER +/- PR +/- HER2 +/-
HER2 pozitif	10-15%	ER- PR- HER2+
Normal benzeri	5-10%	ER-/+ PR HER2-
Bazal benzeri	10 20%	ER- PR- HER2-
Klaudin düşük	12 14%	ER- PR- HER2-

Amerika Birleşik Devletleri ele alındığında meme kanserine sahip hasta sayısında oran 2000'lerin ortasından beri her yıl %0,5 artış göstermektedir. Buna karşılık meme kanserinden hayatını kaybedenlerin sayısı 1989 yılında en yüksek seviyelere ulaşmasına nazaran 2022 yılına gelindiğinde bu sayıdan %42 azalma belirlenmiştir. Bunda mamografi ile erken teşhisin önemini büyüktür. [27]. Erken tanı, yüksek ölüm oranının önüne geçmek için meme kanseri tedavisi için çok önemlidir. Erken teşhis edildikten sonra kullanılan tedavi yönteminin başarılı olma ihtimali çok yüksektir. Fakat meme kanserinin tekrar etme olasılığı çok yüksektir. Tedaviden 15 yıl sonra bile ortaya çıkabilir, bu nedenle yaşam boyu rutin takip gerektirir [11].

2.3 Meme Kanseri Tanı ve Tedavisi

Her kanserde olduğu gibi meme kanserinde de erken tanı çok önemlidir. Meme kanserinin tanısı için kullanılan yöntemler Kendi kendine meme muayenesi (KKMM), Klinikte meme muayenesi (KMM) ve mamografi (MG) şeklindedir [28], [29]. 20 yaş sonrasında kadın bireyler tarafından KKMM'nin düzenli olarak her 30 günde bir yapılması, 20 ile 40 yaş arasında düzenli olarak 3 yıl aralıklarla KMM yaptırılması, Türk Radyoloji Derneği tarafından yayınlanan rehberine göre 40 yaş sonrasında yine kadın bireyler tarafından her yıl olacak şekilde MG ile kontrole

başlanması tavsiye edilmektedir. 50 yaş üzerine çıkıldığında ise, 69 yaşa kadar MG çektilmesi yılda 2 kez tavsiye edilir [29], [30]. KKMM'de bireyler öncelikle bakarak Şekil 2.3.'te illüstire edildiği gibi şekilde, biçimde ya da simetride bir değişiklik olup olmadığını ayna karşısında inceleyerek, bir farklılık olup olmadığını gözlemlemeliler [28]. Sonrasında öne eller yukarı kaldırılıp daha sonra kalçaya konularak 2 farklı pozisyonda da meme derisi üzerinde bir değişme veya çekilme var mı ve meme başları simetrisi nasıl diye incelemeliler. En son olarak ise kişiler yatay pozisyona gelerek öncelikle ellerden biri örnek olarak sağ el başın altına konularak diğer elle sağ meme muayene edilmelidir, sonrasında aynı işlem diğer meme içinde gerçekleştirilmelidir. Klinikte yapılan muayene de aynı kendi kendine yapılan muayene gibi gerçekleştirilmektedir [31].



Şekil 2.5 Meme Kanserinin Uyarıcı Belirtileri [28]

Günümüzde meme kanserin türleri arasında çok fazla mutasyon bulunması, epigenetik ve transkripsiyon tarafında çeşitli farklılıkların olması, aynı zamanda

tedavi için kullanılan yöntemlere direnç oluşması ve hastaların tedaviye farklı yanıtlar vermesi gibi sebeplerden dolayı meme kanseri tedavi için çeşitli yöntemler geliştirilmiş durumdadır [19].

Meme kanserinde tedavi yöntemi olarak ameliyat, kemoterapi, radyoterapi, hormon terapisi veya biyolojik terapi yöntemleri bulunmaktadır. Fakat bunların çeşitli dezavantajları bulunmaktadır. Meme kanseri hücrelerinin bir kısmının kemoterapi ilaçlarına karşı direnç gösterdiği bilinmektedir, bu da tedaviyi zorlaştırmaktadır. Ayrıca bu klasik tedavi yöntemlerinin birçok yan etkisi bulunmaktadır. Etkileri kısa ya da uzun süreli olabilmektedir ve hayatı hasta için oldukça zorlaştırabilmektedirler. Bu sebeplerden dolayı da toksisite ve yan etkileri en aza indirecek şekilde, daha doğal içerikli yeni tedaviler üzerine çalışmalar yapılmaktadır [32], [33].

2.3.1 Lokal Tedavi

Lokal tedavi yöntemleri cerrahi tedavi ve radyoterapiyi içermektedir. Bu iki yöntemde de tedavi sadece tümörü içeren bölgeye yöneliktir [3].

2.3.1.1 Cerrahi Tedavi

Cerrahi tedavi öncelikle biyopsi yapılarak yani olası kanserli dokudan parça alınarak tanı yapılmasında, sonrasında kanserli doku metastaz yapmadıysa ve yayılmadıysa tek başına kanser tedavisinde kullanılır. Böylece kanserli doku alınarak vücuttan uzaklaştırılır. Bunun yanı sıra kanser dokusu metastaz yapıp yayılmışsa, bu durumda diğer dokularda hasar oluşturulmaması imkan dahilinde değilse, öncesinde kemoterapi ya da radyoterapi ile doku küçültüldükten sonra cerrahi müdahale ile uzaklaştırılır. Bilinen geleneksel açık ameliyat dışında çeşitli cerrahi müdahale yöntemleri de mevcuttur. Örneğin, laparoskopik cerrahi sayesinde kamera yardımıyla ufak boyutta açılan bir delik ile ameliyat gerçekleştirilir. Daha hassas ve ulaşılması oldukça zorlu durumlarda ise robotik cerrahiye başvurulur [34]. Meme kanserleri için çoğunlukla tümörün etrafında bulunan sağlam meme dokusu ile birlikte alındığı meme koruyucu ameliyat veya total mastektomi denilen tüm meme dokunun alınması gerçekleştirilmektedir [35]. Total mastektomi sonucu bunu yaşayan hastada özgüven kaybı, estetik kaygısı, onu bu duruma getiren durumdan dolayı hastalıktan önceki yaşam tarzı

nedeniyle suçluluk duyma ve cezalandırılma korkusu gibi çeşitli psikolojik yan etkiler gözlenebilmektedir [36].

2.3.1.2 Radyoterapi

İyonizan ışınlar ile kanserli hücrelerin öldürülmesini hedefleyen bir tedavi yöntemidir [34]. Bu ışınlar iyonlar aracılığıyla hücrelerde yüksek bir enerji toplanmasına ve bu toplanan enerji de hücrelerin genetik materyalleri olan Deoksiribonükleik asit (DNA)'nın bir ya da birden fazla bağında kırılmaya sebep olarak zarar görmesine, bölünme ve çoğalma işlemlerini gerçekleştiremez hale gelmesine neden olur. Bunun sonucunda da hücrelerin ölmesine sebep olmaktadır. Radyoterapi hücre ölümüne direkt ya da indirekt olacak şekilde etki edebilmektedir. Direkt etkide doğrudan DNA'ya hasar verirken, indirekt etkide serbest radikallerin oluşmasına sebep olur ve bu serbest radikaller DNA hasarına sebep olur. Bunun yanı sıra radyoterapi bazı kanser türlerinde tek başına kullanılsa bile meme kanseri için genellikle kemoterapi ve cerrahi müdahale gibi diğer yöntemlerle birlikte kullanılmaktadır. Cerrahi müdahale ile birlikte kullanıldığında müdahaleden sonra kalan mikroskobik düzeyde tümör hücrelerinin elimine edilmesi için kullanılmaktadır. Radyoterapinin hemen hücre öldürmesi söz konusu olmadığı için etkileri belirli bir süre daha devam ederek hücre ölümüne terapi bitse dahi sebep olmaktadır [37], [38].

Yıllar içinde çeşitli radyoterapi yöntemlerini geliştirilmiştir. Yeni yöntemlerin geliştirilmesindeki amaç mümkün olduğu kadar sadece kanserli hücrelere en yüksek düzeyde etki edip, sağlıklı hücrelere en az düzeyde hasar verilmesidir. Sağlıklı hücreler radyoterapi sonrasında kendilerini kanser hücrelerine oranlara daha hızlı bir sürede normal hallerine döndürebilirler. Bu sebeple tedaviden dolayı oluşabilecek saç dökülmesi, halsizlik durumu ve deride çeşitli reaksiyonlar gibi yan etkiler görülse de kalıcı değildir [34], [37]. Fakat tedavinin yaklaşık olarak 2. veya 3. haftası ortaya çıkmaya başlayan deri reaksiyonları hastanın yaşam kalitesine zarar vermektedir. Bu cilt reaksiyonları arasında eritem, ağrı, kuruma, kaşınma gibi durumlar gözlenmektedir [38].

Bunun dışında radyoterapi alan kişilerde radyoterapinin depresyonun gelişmesine katkı sağladığı düşünülmektedir. Cerrahi müdahaleden sonra uygulanan radyoterapinin hastalarda korku ve endişe yarattığı belirtilmektedir [36].

2.3.2 Sistemik Tedavi

Sistemik tedavi biçimleri kemoterapi, hormon terapisi ve biyolojik terapi başlıklarına ayrılabilir. Bu tip tedavi biçimlerinde lokal tedaviden farklı olarak vücudun tüm bölgelerinde yer alan kanserli hücrelerin tedavisinde kullanılabilir fakat bunu yaparken vücutta yer alan sağlıklı hücrelerin de etkilenmesine sebep olurlar. Ayrıca bu tedavi yöntemlerinde toksik etki ve tümör direnci gibi problemler görünmektedir [3].

2.3.2.1 Kemoterapi

Kemoterapi kanser hücrelerini kemoterapötik ilaçlar ile yok etmeyi hedeflemektedir, kullanılan çeşitli ilaçlar değişik mekanizmaları hedef almaktadır [34]. Meme kanseri için hedeflenen bu mekanizmalardan bazıları DNA hasarı, apoptoz, mitotik inhibisyon, nükleik asit sentezi inhibisyonu, topoizomeras inhibisyonu şeklindedir. Meme kanserinde kemoterapötik ajan olarak kullanılan DNA hasarını hedefleyen kemoterapötik ajanlardan bazıları cisplatin, epirubisin ve doksorubisindir. Fakat olası yan etkiler arasında, cisplatin için nefrotoksisite, doksorubisin için bilinç kaybı ve anemi, epirubisin için ise kardiyotoksisite, anemi ve gastrointestinal toksisite gibi çok güçlü yan etkiler bulunmaktadır. Apoptotik hücre ölümü mekanizmasında kullanılan siklofosamid ise kilo alımına sebep olmasının yanı sıra pulmoner yan etkilere de sebep olabilmektedir. Mitotik inhibisyonu hedefleyen dosetaxel ise pulmoner toksisiteye, kolit ve diyare gibi etkilere yol açabilmektedir. Gemsitabin kemoterapötik ajanı ise nükleik asit sentezi intibasyon mekanizmasına etki ederken aynı zamanda gastrointestinal toksisiteye sebep olabilmektedir. Bu gibi ciddi yan etkilerden dolayı doğal kaynaklı, daha az toksik etkiye sahip madde arayışı vardır. [39].

Kemoterapinin depresyon gelişimi üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir. Özellikle kemoterapi sonrası oluşabilecek infeksiyon kaynaklı riskler nedeniyle hastalar daha izole yaşamaya mecbur kaldıkları için psikolojileri kötü etkilenmektedir, aynı zamanda kemoterapi alan çeşitli gruplarda bu hastalarda

anksiyetenin arttığı görülmektedir. Bunların yanı sıra meme kanseri nedeniyle alınan kemoterapi ve ameliyattan sonra hastaların yorulma sıklığı %4 seviyesinden %91 seviyesine çıktığı gözlenmiştir [36].

2.3.2.2 Hormon Terapisi (Endokrin Terapisi)

Öncelikle hormonlar endokrin sistem tarafından üretilen moleküllerdir. Üretildikten sonra kana karışarak spesifik oldukları dokuya taşınırlar. Daha sonrasında dokunun içinde ya da üzerinde bulunabilen reseptörlere bağlanarak hücrede hormonun görevi doğrultusunda çeşitli biyokimyasal reaksiyonları başlatırlar. Böylece hücrenin işlevi kontrol edilmiş olur [40]. Vücutta doğal olarak bulunsalar da gerektiğinde dışarıdan hormon takviyesi sağlanabilmektedir. Hormonların bu özelliği onları kanser tedavisinde hastaya dışarıdan takviye edilmesi ile ilaç olarak kullanılması imkanını oluşturur. Meme kanseri için de hormon tedavisi mümkündür [34].

Hormon reseptör antagonistleri: Hormonlar reseptöre bağlanarak işlevlerini gerçekleştirirler, hormon reseptör antagonistleri ise hormonların reseptörlere bağlanmasını engelleyerek çalışırlar, bunu da o reseptöre kendileri bağlanarak yaparlar. Böylece hormon bağlanamaz [34]. Hormona rakip olarak çalışmış olurlar [41]. Hormon reseptör antagonistleri arasında östrojenin etkisine karşı koyanlar seçici anti-östrojen reseptör modülatörü (SERM) olarak adlandırılırlar. Tamoksifen SERM'ler arasında en yaygın olarak kullanılan ilaçlardan bir tanesidir. ER pozitif meme kanseri tedavisinde olumlu sonuçlar görülmüştür [34]. Yapılan çalışmalara göre 20 mg tamoksifeni beş yıl boyunca her gün olacak şekilde kullanan meme kanserine sahip bireylerde %49 seviyesinde gerileme gözlemlenmiştir. Fakat ER negatif meme kanserine sahip olan bireylerde etkisi yoktur [41]. Fulvestrant ise SERM olarak kullanılan başka bir ilaçtır [42]. Metastatik meme kanserine sahip bireylerin tedavisinde kullanılmaktadır [34]. Toremifen SERM olarak kullanılan ilaçlardan bir diğeridir, metastatik meme kanserine sahip menopoz sonrası kadın bireylerin tedavisinde kullanılmaktadır [43].

SERM olarak kullanılan ilaçlar yan etki olarak aniden gelen sıcaklık basmasına, vajinada kuruluk olmasına, miyalji ve artraljiye sebep olabilmektedir. Bunlar

yaygın görülen yan etkiler. Bunların dışında tamoksifenin rahim kanseri riskini arttırdığı bilinmektedir [44]. Aynı zamanda yine tamoksifenin kemik çatlaklarına sebep olabildiği raporlanmıştır [41].

Hormon sentez inhibitörleri: Adından da anlaşıldığı gibi hormonların sentezini engellemektedir. Bunu yaparken hormonun üretildiği yeri hedef alırlar. Bu kategori iki çeşide ayrılır. Bunlardan ilki aromataz inhibitörleri (AI)'dir [34]. Östrojen ve androjen üretimini durdurabilirler. Meme kanseri için östrojen üretimini durdurmak hedeflenir. Menopoz sonrası kullanılırlar. Tamoksifen'den daha etkili ve daha az toksik oldukları bilinmektedir. Aromataz inhibitörlerinden ilk olarak kullanılan aminoglutetimidir fakat belirli bir bölgeye yönelik değildir ve tüm vücuttaki östrojen sentezini durdurabilmektedir. Bu sebepten dolayı yan etkileri çok kötü olabilmektedir. Bu yüzden daha spesifik yeni nesil aromataz inhibitörleri geliştirilmiştir [41]. Temelde AI'ler ikiye ayrılmaktadır, bunlardan bir kısmı steroid bazlı olurlar diğerleri steroid bazlı değildir. İkinci grupta yani steroid bazlı AI'de yer almayanlara örnek olarak anastrozol ve letrozol verilebilir. Bunların etkisi geri dönüştürülebilir. Fakat ilk grupta yer alanların etkisi geri dönüştürülemezdir, kalıcı bir inaktivasyona sebep olurlar. Bu gruba örnek olarak exemestan verilebilir. [45].

Hormon sentez inhibitörlerinde ikinci grup ise gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) analoglarıdır [34]. Bu tedavi menopoz öncesi kullanılmaktadır. Hipotalamusta üretilen GnRH, GnRH reseptörlerine bağlandığında yumurtalıklardan östrojen üretimini sağlayan luteinizan hormon (LH)'nin salınmasına sebep olmaktadır. GnRH analogları ise hipotalamusta GnRH üretiminin aşağı regülasyonunu sağlarlar [46]. Böylece kimyasal kısırlaştırma gerçekleştirilmiş olunur [34]. Kısırlaştırılma ameliyat gibi cerrahi yöntemlerle gerçekleştirilebilir fakat bunlarda geri dönüş yoktur. GnRH analogları ile gerçekleştirilen kimyasal kısırlaştırmanın ise geri dönüşü bulunmaktadır. Bireylerde ilaç kullanıma bırakıldıktan sonra üreme yetisi geri gelebilmektedir. Buserin, goserelin, leupropelin ve triptorelin bu çeşit kimyasal kısırlaştırılma için kullanılan ilaçlardan birkaç tanesidir [46].

Gonadotropin salgılayan hormon (GnRH) analogları ile tedavinin de çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. Sık görülen yan etkileri arasında depresyon ve uyku bozuklukları gibi psikolojik hastalıklar, baş ağrısı, geçici baş dönmeleri ve geçici tat değişiklikleri gibi fiziksel semptomlar bulunmaktadır. Bunların yanı sıra endokrin sisteminin de GnRH analogları tarafından etkilendiği rapor edilmiştir [47].

Hormon Takviyesi: Hormon takviyesi ile temel amaç kanser hücreleri üzerinde sitotoksik bir etki oluşturmaktır. Direk olarak hormonun üretimi ya da hormonun bağlandığı reseptöre bağlanmasını engellemek yerine vücuda hormon takviyesi yapılarak hormon seviyeleri artırılır. Böylece vücudun onu azaltmak için başka bir hormonun seviyesini arttırarak o hormonu azaltması beklenir. Meme kanserinde östrojen dengesini sağlamak için progesteron hormonu kullanılmaktadır [34]. Östrojen ile birlikte kullanılan progesteronun uzun dönemde bazı kadınlarda kanama ve meme ağrısı gibi yan etkiler oluşturduğu gözlemlenmiştir. Kısa dönemde ise bunlar görülmemektedir fakat bu etkilerin kısa dönemde gecikip sonradan ortaya çıkabildiği söylenmektedir [48].

2.3.2.3 Biyolojik Terapi

Biyolojik terapide biyolojik maddelerin tedavi amaçlı kullanılması esas alınmaktadır. Biyolojik tedavide anti-anjiyogenikler, anti-tümörojenikler, bunların yanı sıra çeşitli kanser aşılı, monoklonal antikolar, interferonlar, interleükünler de kullanılabilir. Aynı zamanda gen terapisi de kanser tedavisinde kullanılan biyolojik terapilerden biridir [34].

Pasif İmmünoterapi: İmmünoterapide yapılmak istenen bireylerin bağışıklık sistemini aktive ederek onların kanserli hücreler ile savaşmasını teşvik etmektir. Aktive etme işlemi bireylerin kendi bağışıklık sistemi kullanılarak ya da sentetik olarak üretilen monoklonal antikolar yardımıyla gerçekleştirilebilir. Bu tedavi antikör tedavisi ve non-spesifik kanser immünoterapisi olarak ikiye ayrılmaktadır [34].

Meme Kanseri Aşılı (Aktif İmmünoterapi): Alternatif olarak üretilen tedavi yöntemlerinden biridir. Farklı materyaller kullanılarak aşı üretilmektedir. Kullanılanlar arasında gen, virüs, bakteri, peptit ve hücreler bulunmaktadır [19].

İlk olarak gen bazlı aşılar da amaç hedefteki kanser hücrelerine belirli bir aktif genin verilmesidir. Bu gen kanser hücrelerinin en temel fonksiyonlarını inhibe edecek şekilde programlanabilmektedir. Yani kanser hücrelerinin büyüme baskılayıcılara karşı gösterdiği direnç inhibe edilebilir, anjiyogenez yapabilme özelliği durdurulabilir, apoptoz indüklenebilir, hücre döngüsüne devam etmesi engellenerek bölünmesi engellenebilir, tümör hücre direkt olarak inhibisyona uğratabilir, aynı zamanda metastazı aktive etmesinin önüne geçilebilir. Gen bazlı aşı tedavisinde genin hedef hücrelere taşınması gerekmektedir, bu amaçla da virüs ve bakteriler gibi ajanlar kullanılabilir [19], [49].

Peptit bazlı aşılar ise belirli bir ya da daha fazla antijene karşı bağışıklık tepkisi oluşturma amacıyla kullanılır. Hedefte tek antijen var ise tek değerlikli, birden fazla antijen var ise de çok değerlikli olarak adlandırılmaktadırlar [19], [49].

Son olarak ise hücre temelli aşılar meme kanseri tedavisinde kullanılabilir. Hücreler hastanın kendisinden alınabildiği gibi, başka bir donörden de alınabilir, ya da tümörün modifiye edilmiş hücreleri kullanılabilir. Diğer yöntemlerde olduğu gibi burada da amaç immün sistemi aktive ederek kanser hücrelerine karşı çalışmasını sağlamaktır [19], [49].

Meme kanseri tedavisinde kullanılan aşıların geleneksel yöntemde kullanılan kemoterapiye göre daha düşük toksisiteye sahip olduğu ve vücut tarafından toleransının daha yüksek olduğu gözlemlense de sınırlı seviyede kritik fayda raporlanmıştır. Sağladığı immün tepkileri kısa süreli olduğu için tek başına tedavi yöntemi olarak kullanılamamaktadır [49].

Kanser Büyüme İnhibitörleri: Kanserli hücrelerin büyümesini engellemek amacıyla kullanılmaktadır [19].

2.4 Flavonoidler

Flavonoidler, OH grubu ile benzen halkaları içeren bitki kaynaklı ikincil metabolitlerdir. Meyve ve sebzelerde bulunmasının yanı sıra tahıllarda, çikolatada, çay ve şarap gibi gıdalarda da bulunmaktadır [50], [51]. Bu besin ailesine ait 10.000'den fazla üye vardır. Bu türler altı ana tür içinde

toplanmışlardır; izoflavonoller, flavonoller, flavonlar, flavonoller, antosininler ve çankonlardır [51]–[54].

İzoflavonlar: Flavonoidler sağlık alanında geniş çaplı kullanımı ile öne çıkar bir alt türüdür. En bilinen İzoflavonlar genistein ve daidzeindir [55], [56]. Yaklaşık olarak 1,2 ile 4,2 mg/g aralığında kuru ağırlığa sahip izoflavon içeren soya fasulyesi temel izoflavon kaynağıdır. Bunun dışında soya gıdası türevleri, kırmızı ve beyaz üçgül olarak adlandırılan çiçek türleri ve yonca da izoflavon kaynağıdır. Ayrıca az miktarda da olsa çeşitli sebze ve meyveler ile yemişler de izoflavon içermektedir [57]. 300'den fazla bitkide ağırlıklı olarak kök ve çekirdeklerinde olmak üzere izoflavon tespit edilmiştir [58]. İzoflavonlar sağlık alanında çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Öncelikle izoflavonların östrojen reseptörlerine bağlanma yeteneği vardır [56]. Bu sebepten dolayı fito-östrojenler olarak da adlandırılmaktadırlar [59]. Bu yetenek baz alınarak, 6 menopoz öncesi kadın bireyde, 9 ay boyunca günlük 45 mg olacak şekilde izoflavon içeren soya bazlı sebze yedirilerek yapılan çalışmada belirli bir süre sonra adet döngülerinin düzenlendiği ileri sürülmüştür [60]. Soya fasulyesi ve türevleri dışında kırmızı üçgülden yüksek oranda izoflavon bulunması sebebiyle ek gıda takviyesi olarak kullanılmaktadır [59]. Dahası, İzoflavonlar genel olarak güçlü antioksidan etkileri ile serbest radikallerin genetik materyale karşı sebep olabilecekleri hasar önlenerek çeşitli kanser risklerinin azaltılmasını sağlayabilirler [61].

Flavanonlar: Flavanonlar, flavonoidlerin büyük bir çoğunluğu narenciye türlerinde bulunan alt türüdür [62]. Flavanonlar, bulunduğu bitki türünün yer altında ve yer üstünde olmak üzere fark etmeksizin her parçasında rastlanabilir fakat en yüksek oranda narenciye meyvelerinin kabuğunda bulunur ve onlara acı tadı veren flavanonlardır [63]. Narincenin ve hesperitin bu alt en çok önem verilen örneklerindedir [56]. Narincenine, narenciye meyveleri dışında düşük oranda da olsa domateste de rastlanılmıştır. Flavanonların anti-kanser etkisi tam olarak araştırılmamıştır. Fakat dişi fareler üzerinde meme kanseri hücreleri aşıl原因 olarak yapılan çalışmada portakal suyu ve naragin kaynaklı gıdalarla beslenen farelerde tümör gelişiminin ertelendiği gözlemlenmiştir. Bu sebeple flavanonların tümör gelişimine karşı etkili olabileceği düşünülmektedir. Bunların yanında hesperitin

ile yapılan alışmalarda uçuk vb. viral hastalıklarda anti-viral etkisi olduğu ortaya koyulmuştur [63].

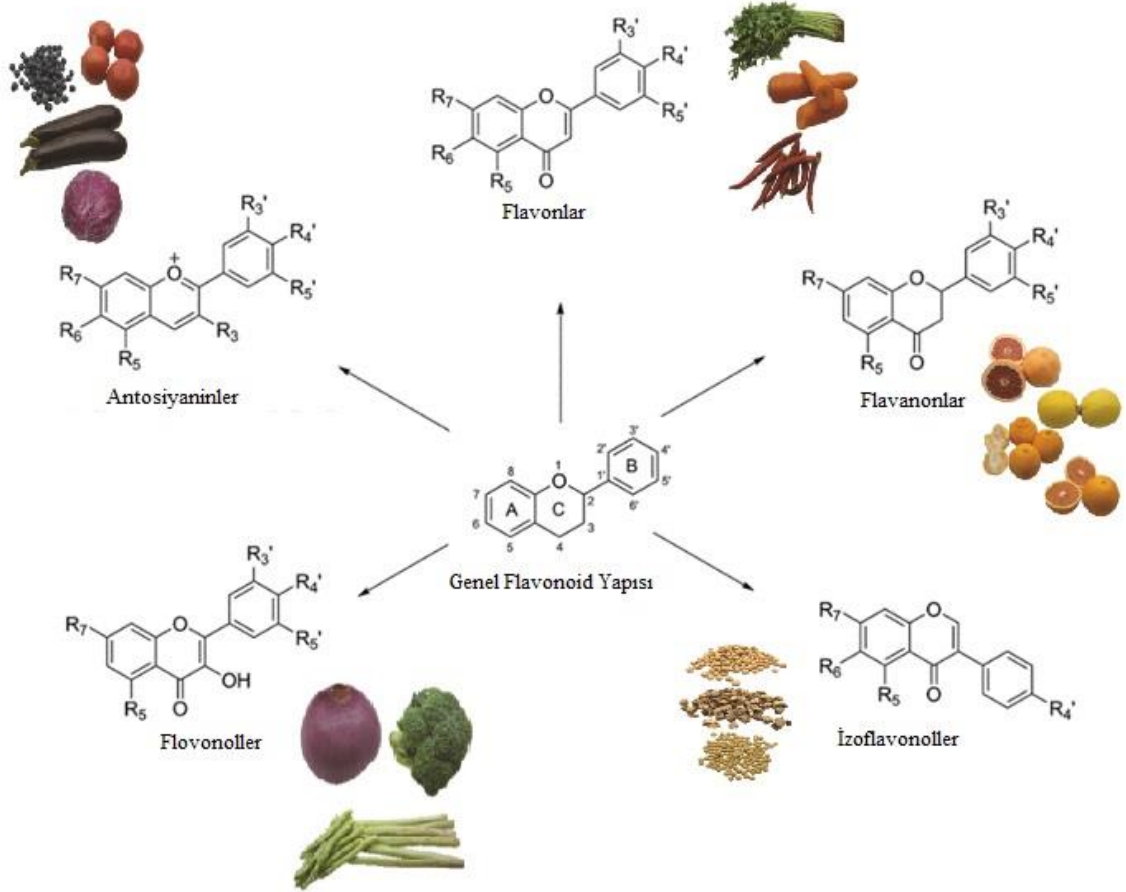
Flavonlar: Flavonlar, flavonoid alt türleri arasındaki en büyük türlerden biri olarak bilinmektedir [61]. Flavonlar kereviz, kırmızı biber, portakal, soğan, maydanoz, buğday filizi, çay, portakal, brokoli, havuç, lahana, elma, papatya ve nane olmak üzere birçok meyve ve sebze de bulunmaktadırdır [50], [56], [61]. En çok çalışılan iki flavon apigenin ve luteolindir [61]. Apigenin bilinen flavonlar arasında daha az toksisiteye sahiptir [64]. Apigenin de antioksidan etkileri bulunmaktadır, özellikle pankreasta olmak üzere serbest radikallere karşı çalışmaktadır. Bunun dışında enflamasyona etkisi araştırılmış ve kanser ile kardiyovasküler hastalıklarda enflamasyonu düşürebileceği öne sürülmüştür [61]. Yine aynı şekilde luteolinin de antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir [56].

Flavonoller: Keton fonksiyonel grubunu içeren flavonoid alt türüdür. Domates, elma, soğan, lahana gibi gıdaların yüksel flavonol kaynağı olduğu bilinmektedir. Hakkında en çok çalışılan flavonollerin başında kuarsetin, kamferol ve mirisetin gelmektedir [50], [58]. Flovonollerin de çoğu flavonoid gibi güçlü antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir. Bu özellikleri onların serbest radikallerle savaşabilmesine, onların oluşumunu engelleyebilmelerine ve vücuttaki var olan antioksidan sistemi koruyabilmelerine olanak sağlamaktadır. Kuarsetin ve kamferolün bu açıdan yüksek antioksidan özelliklerine sahip oldukları gözlemlenmiştir. Bu sebepten dolayı da sağlık alanında odakları üzerlerine çekmişlerdir [65]. Aynı zamanda kamferolün kanser hücrelerine karşı kullanılabilceği çeşitli kaynaklarda gösterilmiştir [66]. Mirisetin ile yapılan bir çalışmada karaciğer yağlanmasına sahip bireylerin hayatta kalma oranında artış sağlandığı görülmüştür [67].

Antosiyanidinler: Bitkilerde birden fazla renkten sorumlu olan fitokimyasal pigmentlerdir. Meyve ve sebzelerde bulunmasının yanı sıra kuruyemişlerde, balda, çayda, zeytinyağı ve kakao gibi gıdalarda, aynı zamanda kırmızı şarapta bulunmaktadır. Sağlık alanında antosiyanidinleri cazip kılan birçok özellikleri vardır. Bunlar arasında antioksidan olmaları, anti-kanser, anti-bakteriyel, anti-diyabetik, sitotoksik olmaları gibi özellikleri bulunmaktadır. [56].

Antosiyanidinler yapısal olarak stabil olmadığından dolayı genellikle glikolizlenmiş halde doğada bulunmaktadırlar [61]. Bu glikolizlenmiş forma verilen isim ise antosiyanindir [68]. Bu isim yunanca çiçek ve mavi anlamına gelen antho ve kyanos kelimelerinden gelmektedir [69]. Bitkilerde, çiçeklerde ve meyvelerde renklerden sorumlu bir flavonoiddir [50]. Genellikle mavi, kırmızı ve mor renklerinin sorumluluğu antosiyaninlere aittir [58]. Bugüne gelindiğinde 300'den farklı antosiyanin çeşidi olduğu belirlenmiştir [68]. Yaban mersini, kıvılcık, üzüm, böğürtlen, ahududu ve çilek gibi meyvelerde bulunmasının yanında domates, kırmızı lahana ve patlıcan gibi sebzelerde de bulunmaktadır [50], [61]. Çeşitli türevleri, gıda sektöründe gıda boyası olarak ve aynı zamanda akıllı paketlenme denilen pH'a göre gıda maddesi bozuldukça renk değiştiren antosiyanin boyaları olarak da kullanılmaktadırlar [70]. Bunların dışında antosiyaninler güçlü antioksidanlar olmalarının yanında aynı zamanda gırtlak, meme ve prostat kanseri gibi birçok kanser türünde anti-kanser etkisi olduğu belirtilmiştir [56].

Kankonlar: Açık zincirli bir flavonoid ailesidir. Bazı türleri arasında arbutin, philoridzin ve chalconaringenin bulunmaktadır. Domates gibi sebzelerde ve çilek ile armut gibi meyvelerde bulunmaktadır [50]. Sağlık alanında antioksidan, anti-bakteriyel, anti-viral ve anti-kanser gibi özellikleri bulunduğu için kullanım alanı geniştir [61], [71]. Kankonlar doğal olarak bulunabileceği gibi sentetik olarak üretimi de kolaydır ve sentetik hali sağlık alanında kullanılmaktadır. Sentetik olarak üzerlerine farklı fonksiyonel gruplar eklenerek farklı özellikler kazandırılıp kansere karşı kullanılmaktadır [72]. Üstelik ilk kez 1800'lerin sonunda laboratuvarında üretilmiş, doğal hali 1910 yılına kadar izole edilmemiştir [71].



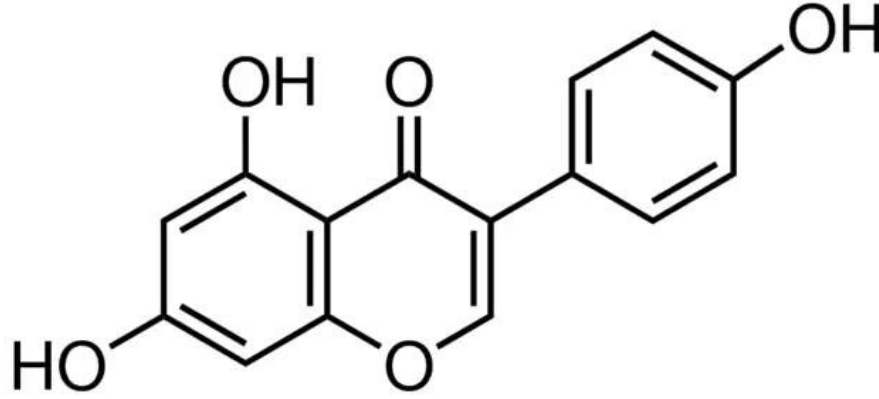
Şekil 2.6 Beş temel flavonoid yapıları ve buldukları bazı besin maddeleri [61], [73]

Kısacası flavonoidler hücre içinde birçok görevde yer alabilmektedirler. Bu görevlerin arasında hücrenin hayatta kalmasını, büyümesini ve çoğalmasını düzenleyen sinyal yollarının düzenlenmesi vardır. Buna bağlı olarak bazı araştırmacılar, flavonoid tüketiminin belirli kanserlerin oluşma ve gelişme riskini azalttığını tespit etmişlerdir. Bunu düzenlenmesinde görev aldığı farklı sinyal yolları ile kanser hücrelerinde apoptozu indükleyerek ve hücre döngüsü tutuklamasını uyararak yapabildiği düşünülmektedir. Birçok farklı kanser türünde kanıtlanmış anti-anjiyogenez ve anti-metastaz kabiliyetine sahiptirler. Aynı zamanda doğal oldukları için yan etkileri klasik kanser tedavilerinden çok daha düşüktür ve tüm bu sebeplerden dolayı flavonoidlerin kanser tedavisi için umut verici potansiyele sahip oldukları görülmektedir [51], [52].

2.5 Genistein

Genistein soya fasulyesi, soya gıda ürünleri ve bazı kurubaklagillerde bulunan bir izoflavondur. Bunların yanı sıra farklı meyve ve yemişlerdeki genistein ve daidzein seviyeleri ölçülen bir çalışmaya göre kızılcık, hurma, incir, mango çarkıfelek gibi meyveler ile fındık, fıstık ve kestane gibi yemişlerde de Genistein tespit edilmiştir [74].

Genisteinin ilk kez izolasyonu 1899 yılında gerçekleşmiştir [75]. Kimyasal formülü 4', 5,7-trihidroksiizoflavon ve kimyasal yapısı Şekil 2.3'te verildiği gibidir [76], [77]. İnsanlarda östrojenik aktivite gösteren bir grupta yer aldığı için aynı zamanda fitoöstrojendir [74].



Şekil 2.7 Genisteinin kimyasal yapısı [77]

Genistein tüketiminin Çin, Japonya gibi Asya ülkelerinde batı ülkelerine göre çok daha fazla olduğu ortaya konulmuştur. Asya ülkelerinde yetişkin bireyler tarafından tüketilen izoflavon miktarı 25-50 mg arasında belirlenirken, bu tüketim miktarı Batı ülkelerindeki yetişkinler için 3 mg'dan daha az olarak kaydedilmiştir. Daha sonrasında yapılan epidomolojik çalışmalar ise meme ve prostat kanseri başta olmak üzere çeşitli kanser türlerinin Asya ülkelerinde daha az gözlendiğini ortaya çıkarmıştır [76]. Bu sebepten dolayı genisteinin antikanser etki gösteren birçok biyolojik aktivitede yer aldığı inanılmaktadır. Bunlar arasında protein tirozin kinaz inhibisyonu, topoizomeraz II inhibisyonu, anjiyogenez inhibisyonu, metastazın inhibisyonu, proapoptotik özellikleri, kanser hücrelerinin farklılaşmasının başlatılması, hücre döngüsü modifikasyonu gibi aktiviteler bulunmaktadır. Genistein'in hedef aldığı en temel moleküller arasında B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2),

Bcl-2 ile ilişkili X proteini (Bax), nükleer faktör-κB (NF-κB), bir NF-κB inhibitörü bulunmaktadır. Bunların yanında fosfoinositid 3, -kinaz/Akt (PI3K/Akt), hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz 1/2 (ERK 1/2), mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) ve inflamasyon ve hücre ölümü gibi süreçleri kontrol eden karpazlar gibi sinyal yolları da genisteinin hedefleri arasındadır. Bunun yanı sıra meme kanserinin oluşumunda etkisi olan östrojen reseptörlerine karşı antagonistik aktivite de göstermektedir. Aynı zamanda diğer kemoterapötiklerle karşılaştırıldığında düşük toksisiteye de sahip olduğu için antikanser tedavisi için umut vadeden önemli bir aday haline gelmiştir [76], [78]. Fakat genistein çeşitli dezavantajlara da sahiptir. Bunlar arasında oral uygulamada çok yetersiz kalması, hızlı şekilde metabolizmadan atılması, kanser hücrelerini hedeflemede yetersiz kalması ve suda düşük çözünme oranı bulunmaktadır [78]. Genistein suda çözünmüyor olsa da etanol gibi organik çözücülerde çözünmektedir. Bu özelliği kullanılarak çözünürlüğünün ve biyo-alımının artırılması mümkündür. Bunun dışında genisteinin nanopartikül içine enkapsüle edilerek kullanımı çözünürlük ve metabolizmadan hızlı atılması gibi problemlere çözüm olmuştur [79].

Genistein ile yapılan çeşitli çalışmalar, genisteinin aynı zamanda obezite ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklar için de umut verici olabileceğini göstermektedir [80]. Dahası, düzenli olarak oral yolla genistein alımının kardiyovasküler ve kemik sağlığına da iyi geldiği bilinmektedir [81].

Genisteinin toksik açıdan incelemesi yapıldığında testosteron dengesizliği, alerji gibi etkileri olabileceği görülmüştür. 12 erkek bireyde yapılan çalışmada, 4 hafta boyunca 56 gram genistein tüketen bireylerde, çalışmanın sonunda testosteron seviyesinin %19 oranında arttığı gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra genisteinin genellikle çocukluk yaşlarında alerjiye sebep olduğu ama yaşamı tehdit eden boyutta olmadığı raporlanmış. Alerji kaynaklı kaşınma, egzama, kusma, mide ağısı ve ishal gibi etkiler gözlemlenmiştir [82].

2.6 Genisteinin Meme Kanseri Üzerinde Etkileri

Meme kanseri vakaları Asya ülkelerinde Batı ülkelerine göre daha az seviyededir. Asya ülkelerinde her gün tüketilen izoflavon 25 ile 50 mg arasında iken, bu oran Batılı ülkelerde 2 mg'dan daha az bir miktardadır. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar ile oral yol ile izoflavon tüketiminin meme kanseri oluşma riskini

azalttığı ve bu nedenle Asya ülkelerinde daha az meme kanseri vakası olduğu ortaya sunulmuştur [57]. Daha önceki yıllarda Singapurlu ve Çinli kadın bireylerle yapılan çalışmada 420'si sağlıklı, 200'ü meme kanseri tanısı konmuş bireyler seçilmiştir. Bu epidemiyolojik çalışma sonucunda soya tüketimi ile meme kanseri riskinin azalması arasında pozitif bir ilişki gözlemlenmiştir [83]. Soya gıdalarının çocukluk yaşlarından itibaren tüketiliyor olmasının meme kanserini önlemede çok daha etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Hatta 5-11 yaşları arasında yani çocukluk döneminde soya tüketiminin ergenlik yıllarında başlanan soya tüketimine oranla meme kanserine karşı iki kat daha koruyucu olduğu raporlanmıştır [84].

Fakat genisteinin meme kanseri tedavisi üzerindeki etkileri tartışmalıdır. Genisteinin bir fitoöstrojen olduğu bilinmektedir ve değişen östrojenik etkileri bulunmaktadır. Artan östrojen seviyeleri meme kanseri riskini arttırmaktadır ve genisteinin bazı durumlarda böyle bir etkiye sahip olduğu düşünülmektedir [82], [85]. Fakat Dr. Shu ve arkadaşlarının soya gıdalarının tüketilmesinin meme kanserine etkisini inceledikleri çalışmada da soya gıdalarının güvenli olduğu, ölüm ve hastalığının tekrar etme oranının soya gıdaları tüketimiyle azaldığı belirtmişlerdir [81]. Genisteinin östrojen antagonist olarak da çalışabilmektedir, normal östrojenler ER alfa'ya bağlanırken genistein ER beta'ya bağlanmaktadır. Bu bağlanmanın da normal östrojen bağlanmasına göre daha zayıf olduğu belirtilmiştir [80], [86]. Bu durumdan dolayı da genistein, doğal SERM olarak düşünülmektedirler [80]. Dahası genisteinin, SERM olarak kullanılan ilaçlardan biri olan raloksifen ile ER'ye neredeyse aynı şekilde bağlandığı gösterilmiştir [87].

2.7 Kanser ve Nanopartiküller

Gelişen yeni teknolojiler ile kanser tedavisinde nanoteknoloji kullanılmasını kapsayan nano-onkoloji bölümü ortaya çıkmıştır. Altın nanopartiküller nano seviyede kanser teşhisinde ve kanserin ilerleyişini kontrol etmekte kullanılırken, ilaç yüklü nanopartikül sistemleri ise kanser tedavilerinde kullanılmaya başlanmıştır. Nanopartiküller ile ilaç verimliliği artırılırken düşük toksisite ilaçların yan etkilerinin azaltılmasını sağlamaktadır [88], [89].

Geleneksel kemoterapinin en büyük problemlerinden birinin kanser hücrelerini öldürürken aynı zamanda sağlıklı hücrelere de zarar vermektedir. Bunun yanı sıra kemoterapide kullanılan ilaçlar düşük çözünürlük, düşük biyoyararlanım gibi problemlerde barındırmaktadırlar. İlaç tüm vücuda dağılırken kanserli bölgeye ilacın sadece belli bir kısmı gelmektedir. Tümör çevresinin de asidik doğası nedeniyle ilacın etkinliği de düşmektedir [90]. Nanopartiküllerin bu ilaçları hedefteki kanser hücreleri götürmek için ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması da kanser tedavisinde önemli bir adımdır [91]. Böylece ilaçların diğer hücrelere olan toksik etkisi düşürülmektedir [92]. Nanopartiküller tümör çevresinin etkilerini atlabilecek kapasiteye sahiptir. Bunun yanı sıra ilacı direkt olarak hedefe taşıyabilmekte; sağlıklı hücrelerin etkilenmesinin önüne geçebilmektedir [90]. Miseller, lipozomlar, dendrimer, karbon nanotüpler ve son olarak ise metalik nanopartiküller nano ilaç taşıyıcı sistemler (nano-DDS) olarak kullanılmaktadır [93].

Miseller hem hidrofilik hem de hidrofobik özellikler taşıyan, amfifilik partiküllerdir. Bu özellikleri sayesinde sulu çözeltilerde kendi kendilerine oluşurlar. Boyutları 5 ile 100 nm arasında değişebilmektedir. Miseller kabuğu hidrofildir, hidrofili seviyesi, yükü ve buraya yapılan çeşitli modifikasyonlar misellerin kan dolaşımında ne kadar süre kalacağına, stabilitesini, biyoyumluluğunu ve ilacın nasıl dağıtılacağı gibi parametrelerin belirlenmesini sağlamaktadır. İç kısmında ise hidrofobik ilaç bulunur ve dış etmenlere karşı korunmuş olur [90], [94].

Lipozomlar da misellere benzer şekilde amfifilik oldukları için kendi kendilerine oluşabilen, ortasında içinde ilaç olan sulu çözeltinin bulunduğu nanopartiküllerdir. Çift katmanlı oldukları için birden fazla fonksiyonu gerçekleştirebilme kapasiteleri vardır [95]. Birden fazla fonksiyonu aynı anda yerine getirebilen nanopartiküller de iki maddenin sinerjistik etkisini incelemeye olanak sağladıkları için kanser tedavisi araştırmalarında tercih sebebidir [96]. Hem hidrofobik hem de hidrofilik ilaçları aynı anda taşıyabilirler [97]. Boyutları 10 nm'den başlayarak birkaç bin nm'ye kadar olabilmektedir [95]. Diğer DDS gibi biyoyumludurlar ve işleri bittiğinde toksisite yaratmadan çözünürler. Aynı zamanda miseller gibi içerisine hapsedilen ilaçları korurlar, kemoterapötik

ilaçların toksisitesini azaltırlar, ilacın yavaş yavaş salınmasını sağlayabilirler ve hedefli ilaç taşınımı yapabilirler [97].

Dendrimerler merkezinde bir çekirdek olan ve bu çekirdekten dallanan partiküllerdir. Dallanmaların arasında iç boşluklar bulunurken, dallanmaların uç noktalarında ise fonksiyonel gruplar yer almaktadır [93], [98]. Bu partiküllerde yapısından dolayı ilaç enkapsülasyonu biraz daha farklıdır. Dendrimerlerin iç kısmında bulunan boşluklar hidrofilitik ve diğer hidrofilik ilaçlarla etkileşime geçer, bunun yanında yine bu boşluklarda olan nitrojen ve oksijen atomları ile ilaç etkileşime geçerek hidrojen bağları oluşturabilir ve böylece ilaç dendrimerlere yüklenmiş olur. Kanserde kullanılan kemoterapi ilaçlarının başarılı şekilde kanser hücrelerine iletimi gözlenmiştir. Yüklenen ilacın biyoyararlanımını arttırdığı raporlanmıştır [98], [99].

Metalik nanopartiküllerin boyutu 10 ile 1000 nm arasında değişebilmektedir. İlaçlar kovalent bağ ile nanopartiküle bağlanabilmekte ya da içerisine hapsedilebilmektedirler. Kanser hücrelerinin patofizyolojisini kullanarak ilaçların bu hücrelere etkili bir şekilde taşınmasına olanak sağlamaktadırlar [100]. Aynı zamanda metalik nanopartiküllerden olan altın nanopartikülleri de kanser tanı ve teşhisinde kullanılmaktadır [88].

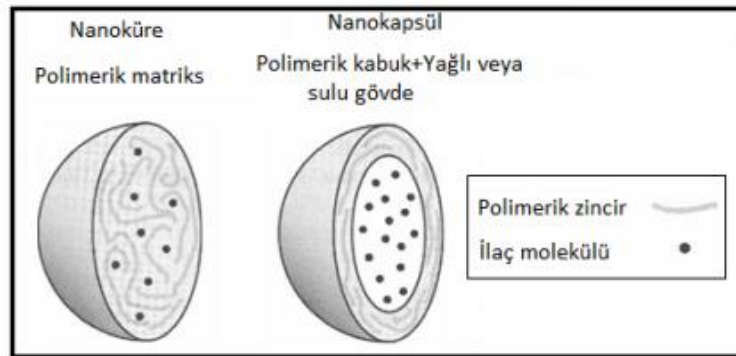
Nanopartiküller kanser teşhisinde kullanılabilir. Geniş yüzey alanı oranına sahip oldukları için üzerlerine istenilen yüzey maddeleri yerleştirerek hedeflenen kanser moleküllerini tanınması ve bağlanması sağlanabildiği gibi, teşhis de konulabilir. Nanopartiküller ile daha hassas ve duyarlı bir tanı elde edilebilir [101].

Kanser tedavisi olarak kullanılan immünoterapi de şimdiye kadar yapılan gözlemlerde etkinliğinin ve başarı oranının düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bunun sebebinin kanserli hücrelerin oluşturduğu mikroçevreden kaynaklandığı düşünülmektedir [102]. Nanopartiküllerin kanser tedavisinde immünoterapi ile birlikte kullanılmasının avantajları oldukça çoktur. Nanopartiküller, immünoterapi amaçlı kullanılacak olan antijeni ya da proteini vücuttaki çevre şartlarından koruyarak, hedefe ulaşmadan önce parçalanmasını engelleyebilmektedir. Nanopartiküllerin yüzeyleri modifiye edilerek yüksek hedefleme elde edilebilmesi de bu avantajlardan bir diğeridir [89].

2.8 Polimerik Nanopartiküller

Polimerik nanopartiküller, kısaca NP'ler son dönemlerde sağlık alanında çok ilgi çekmektedir. Bunun sebepleri arasında birçok avantajı olması yer alır. Bu avantajlardan bazıları boyut olarak çok küçük olmaları ile küçük kapilerlerden geçip hücrelerin içine girebilme olanağına sahip olmaları, ilaç salımının kontrollü yapılmasına imkan sağlaması, içerisinde ya da dışarısında yer alan ilaç veya diğer molekülleri bulunduğu ortamdan koruyabilme kapasitesi ve gelişmiş biyoyararlanımdır. Aynı zamanda üretimlerinin kolay olmasının yanı sıra kullanım sonrası toksisite oluşturmadan parçalanabilir [103]–[105].

İlk nanopartiküller 1970'li yıllarda geliştirilmiştir [106]. Morfolojilerine göre birbirinden ayrılan iki tür nanopartikül bulunmaktadır [103]. **Şekil 2.8**'de gösterildiği gibi nanokürelerde ilaç ve polimer uniform olarak dağıtılırken, nanokapsülde polimer zincir kabuk oluştururken ilaç içeri hapsedilmektedir [104]. Nanokürelerin katı polimerik bir yapısı varken nanokapsüller 5 nm civarında bir kalınlıkta, ilacı saracak şekilde bir zarf oluşturmaktadırlar [103]. NP'ler 100 nm'den daha küçük olarak tanımlansa bile çalışmalarda kullanılan polimer ve ilacı kapsayan NP boyutlarının 300 nm'ye kadar çıktığı görülebilir [107].

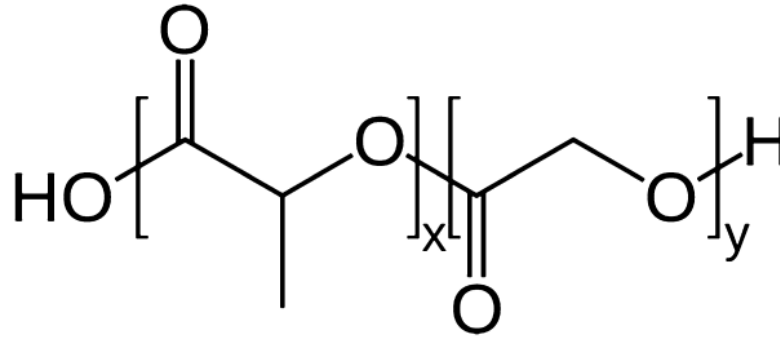


Şekil 2.8 Nanoküre ve nanokapsül yapıları [104]

Nanopartikül üretiminde kullanılan polimerler doğal veya sentetik yapılabilmektedir [104]. NP'lerde sık kullanılan doğal polimerlere kitosan, dekstran, heparin ve hiyalüronan polimerleri örnek verilebilir. Biyolojik olarak çözünebilirler ve biyolojik uyumlulukları bulunmaktadır. Çözünürlüğü olan sentetik polimerlere ise poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA), ve

poli(laktik-ko-glikolid) (PLGA) örnekleri verilebilir. Örnekleri verilen sentetik polimerler de doğal polimerler gibi biyoyumludurlar ve görevlerini yaptıktan sonra biyolojik olarak çözünebilirler. Bunun yanı sıra testler düşük toksisite göstermiştir [103].

Medikal alanda kanser dahi olmak üzere birçok hastalık ile ilgili yapılan çalışmalarda kullanılan sentetik polimerler arasında çeşitli avantajlarından dolayı PLGA'nın en çok kullanılan taşıyıcı sistemlerden biri olduğu bilinmektedir [108]. **Şekil 2.9**'da gösterilen PLGA'nın yapısında laktik ve glikolik asit bulunduğu görülmektedir [109]. PLGA vücutta önce laktid ve glikolat monomerlerine, daha sonrasında ise karbondioksit ve suya metabolize edilir, bu yüzden toksisitesine bakıldığında düşük seviyededir [108], [110]. Aynı zamanda ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından insanlarda ilaç taşıma sistemi olarak kullanılması onaylanmıştır [108].



Şekil 2.9 PLGA'nın yapısı (x, laktik asit monomer sayısını temsil ederken; y ise glikolik asit monomer sayısını temsil etmektedir) [109]

2.9 Meme Kanseri Tedavisinde Nanopartiküller

Nanopartiküllerin meme kanseri üzerindeki etkileri altın ve polimerik nanopartiküller kullanılarak birçok çalışmada incelenmiş bulunmaktadır [96].

Altın nanopartiküllerinin serbest radikaller üreterek tümörlü hücrelerde apoptozu tetiklediği gözlemlenmiştir. Bu tetiklenme için ise bir ışık kaynağı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Altın nanopartikülleri deri yoluyla ulaşılabilir olan meme kanseri kaynaklı tümöre enjekte edilebilmekte ve tümör dokularında birikmesi sağlanabilmektedir. Burada sitotoksosite artırılarak kanserli hücrelerin ölümü tetiklenebilmektedir. Bu tetikleme işlemi ise altınların ışık kaynağı etkisiyle serbest

radikal üretmesiyle, ya da içerisine enkapsüle edilen anti-kanser ilaçlarını taşıması ve burada birikmesini sağlaması ile gerçekleştirilebilmektedir. Aynı zamanda altın nanopartiküller, immünoterapötik ilaçları taşıyacak şekilde de üretilmiştir, böylece bu ilaçların hedefe iletimi gerçekleştirilmiş, terapötik etkinliği artırılmış ve sağlıklı hücrelere olan toksik etkileri azaltılmıştır [96].

Polimer nanopartiküllere gelindiğinde sadece meme kanseri değil genel olarak kanser türleri ele alındığında biyolojik olarak çözünebilir polimerler tercih edilmektedir. Bunlar arasında PLA ve PLGA'da bulunmaktadır. Bu polimerler kontrollü salım, daha yüksek çözünürlük ve geçirgenlik gibi avantajlara sahiptir, aynı zamanda biyoyararlanımı artırır, daha az toksisiteye sebep olur ve ilacı daha iyi enkapsüle etmektedirler. Ayrıca kanser hücrelerini aktif olarak hedefleyebilmeleri için modifiye edilerek üzerlerine çeşitli ligand eklenebilir [96]. Kontrollü salım üzerinde yapılan bir çalışmaya göre ise kemoterapi ilacı içeren bir polietilen glikol-poli nanopartikülünün MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında ilaç salınımını 30 gün boyunca sürdürdüğü raporlanmıştır [111].

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada kullanılan cihazlar aşağıda verilen **Tablo 3.1**'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1 Kullanılan Cihazlar

Cihazlar	Model/Marka
Invert Mikroskop	Olympus CKX41
Ters Floresan Mikroskop	ZEISS AxioVert01
CO ₂ İnkübatör	Biosan ES20
Sonikatör	Bandelin Sonoplus
Peristaltik Pompa	Masterflex Core Palmer
Zeta Sizer	Malvern ZEN 3600 Nano ZS
FT-IR	Thermo Scientific Nicolet iS10
Otoklav	Hirayama
Liyafilizatör	Telstar Cryodos
Çalkalayıcı	Biosan Environmental Shaker ES20
Mini Santrifüj Cihazı	Hermle Z 206 A
Sıvı Azot Tankı	International Cryogenics, Inc. 20R
Biyogüvenlik Kabini	Hedlab XPROII
Elisa Reader	BioTek PowerWave XS2
Hassas Terazı	Shimadzu
UV-Vis Spektrofotometre	Shimadzu UV- 1800
pH metre	Hanna
Distile Su Cihazı	Sartorius Arium Pro
Santrifüj Cihazı	Beckman Coulter Allegra X-30 R
Ultrasonik Su Banyosu	Bandelin Sonorex
Manyetik Karıştırıcı	Variomag Mono
Vorteks	Velp Scientifica
Nanodrop	Thermo Scientific NanoDrop One Microvolume UV-Vis Spectrophotometers
Çoklu Manyetik Karıştırıcı	IKA

3.1.2 Kullanılan Sarf Malzemeler

Bu çalışmada kullanılan sarf malzemeler aşağıda verilen **Tablo 3.2**'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2 Kullanılmış Sarf Malzemeler

Malzemeler	Model/Marka
Hücre üreme flaskaları (T25 ve T75)	NEST
Thoma Lamı	ISOLAB
1000 µl pipet ucu	ISOLAB L.005.01.003.500
200 µl pipet ucu	ISOLAB L-002-R.0
0,22 µm steril filtre	SE2M034199
Steril şırınga	Set Medikal
96 kuyulu mikroparka	Sunul Tissue Culture Plate
96 kuyulu PCR mikroparka	Agilent
24 kuyulu plaka	ISOLAB 13485
15 ml'lik steril falkon tüpler	NEST 601002
50 ml'lik steril falkon tüpler	ISOLAB S.078.02.008.050
1, 2, 5, 10 ve 25 ml'lik steril tek kullanımlık pipetler	SPL Life Science
Parafilm	Bemis PM-996
Hücre kryo (dondurma) tüpleri	NEST 607001

3.1.3 Kullanılan Kimyasallar, Kitler ve Enzimler

Bu çalışmanın nanopartikül sentezi aşamasında kullanılan kimyasal maddeler aşağıda verilen **Tablo 3.3**'te gösterilmiştir.

Tablo 3.3 Nanopartikül Sentezi için Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Nanopartikül Sentezi için Kullanılan Kimyasal Malzemeler	Model/Marka
Genistein	Sigma Aldrich G6776
Etanol	Merck 64-17-5
Diklorometan	Merck
Poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)	Sigma Aldrich 719870
Polivinil alkol	Sigma Aldrich 363138
Steril şırınga	Set Medikal

Bu çalışmanın hücre kültürü aşamasında kullanılan kimyasal maddeler aşağıda verilen **Tablo 3.4**'te gösterilmiştir.

Tablo 3.4 Hücre Kültürü için Kullanılan Kimyasal Malzemeler

Hücre Kültüründe Kullanılan Kimyasal Malzemeler	Marka
DMEM/F12 Besiyeri	Thermo Scientific 11320033
Tripsin-EDTA	Sigma Aldrich T4049
Penisilin/Streptomisin	Sigma Aldrich P4333
FBS	PAN BIOTECH P30-1904
L-glutamin (200 mM)	Gibco 1881732
Disodyum Fosfat Dihidrat	Sigma Aldrich 04272
Sodyum Klorür	Sigma Aldrich 13423
Monosodyum Fosfat	Sigma Aldrich 04270
Sodyum Hidroksit	Sigma Aldrich 71690
Hidroklorik asit	Sigma Aldrich 30721
Tripan Mavisi	Sigma Aldrich T8154

3.1.4 Kullanılan Stok Solüsyonlar ve Tamponlar

3.1.5 Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanan Genistein Çözeltileri

10 ml etil alkolde 1 mg genistein çözdürüldü ve ana stok olarak 0,1 mg/ml'lik genistein çözeltisi hazırlandı. 0,1 mg/ml'lik çözeltiden seri dilüsyonla seyreltilme işlemi gerçekleştirilerek 0,009; 0,008; 0,007; 0,006; 0,005; 0,004; 0,003; 0,002; 0,001; 0,0009; 0,0008; 0,0007; 0,0006; 0,0005; 0,0004; 0,0003; 0,0002; 0,0001 mg/ml konsantrasyonlarında genistein çözeltileri elde edildi.

3.1.6 Polivinilalkol (PVA) Çözeltisi

Polivinilalkol (PVA) çözeltisi %0,1'lik ve %3'lük olmak üzere iki farklı konsantrasyonda hazırlanmıştır. %0,1'lik PVA çözeltisi için 0,1 gram, %3'lük PVA çözeltisi için ise 3 gram PVA hassas tartı ile tartılarak 100'er ml distile su içerisinde 65 ile 75°C derece arasında sıcaklıkta manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı ve PVA çözeltileri elde edildi.

3.1.7 0,01 mol/L'lik PBS (pH=7,4 ve pH=5,5)

0,2922 g NaCl (sodyum klorür), 0,5999 g NaH₂PO₄ (monosodyum fosfat) ve 0,889 g Na₂HPO₄.2H₂O (sodyum fosfat dibazik dihidrat) hassas tartı ile tartıldı ve bir

behere alındı. Aynı işlem tekrarlanarak, aynı miktarda malzemeler ikinci bir behere konuldu. Üzerlerine 500 ml distile su eklendikten sonra manyetik karıştırıcı kullanılarak homojen PBS çözeltileri elde edildi. Çözeltiler istenen pH'a gelene kadar HCl ve NaOH eklenerek bir beherde 7,4 ve bir beherde 5,2 olacak şekilde ayarlandı. Son olarak, daha sonraki hücre kültürü çalışmalarında kullanılmak amacıyla otoklavlandılar.

3.1.8 %10'luk DMEM/F12 Tamamlanmış Sıvı Besiyeri

Hazır şekilde alınmış DMEM/F12 sıvı besiyerine %1 L-glutamin ile 100'er µg/mL miktarlarında penisilin ve streptomisin eklendi. %90'ı DMEM/F12 sıvı besiyeri, %10'u PBS (Fetal Sığır Serumu) olacak şekilde alınarak %10'luk DMEM/F12 besiyeri elde edildi. Besiyeri +4°C'de gelecek hücre kültürü deneylerinde kullanılmak üzere muhafaza edildi.

3.1.9 Hücre Dondurma Solüsyonu

MCF-7 hücrelerinin daha sonra kullanılmak amacıyla dondurulması işlemi için dondurma solüsyonu %90 FBS ile %10 DMSO kullanılarak hazırlandı. Hazırlanan solüsyon -20°C'de saklandı.

3.1.10 MTT Solüsyonu

6 mg MTT tetrazolyum tuzundan hassas tartı da tartılarak, 10 ml PBS içerisinde vorteks kullanılarak çözdürüldü. Daha sonra çözelti 0,22 µm filtreden geçirilerek kullanıma hazır hale getirildi ve kullanıma kadar +4°C sıcaklıkta ve ışığa duyarlı olması sebebi ile karanlık bir ortamda etrafı folyo ile sarılarak saklandı.

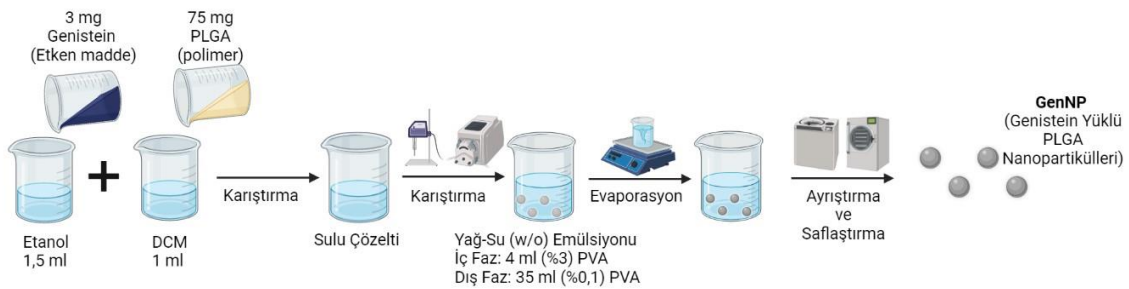
3.2 Yöntem

3.2.1 Genistein Molekülüne ait UV Standart Eğrisinin Belirlenmesi

1 mg miktarında genistein molekülü 10 ml etanol içerisinde çözdürüldü. 0,1 mg/ml'lik ana stok çözeltisi hazırlandı. Hazırlanmış olan genistein çözeltisi seri dilüsyon yapılarak 0,01 mg/ml ile 0,0001 mg/ml aralığında 19 farklı konsantrasyonda genistein çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin spektrumu UV spektroskopisinde belirlendi. Elde edilen UV şiddetleri kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Dalga boyu olarak 264 nm kullanılmıştır.

3.2.2 Tekli Emülsiyon Çözücü Uçurma Yöntemi (o/w) Kullanılarak Genistein Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Sentezi

3 mg genistein ve 75 mg PLGA hassas tartı kullanılarak tartıldı. Genistein, 1,5 ml etanol içerisinde, PLGA ise 1 ml diklorometan (DCM) içerisinde konularak vortex yardımı ile çözdürüldü. Daha sonra 2 çözelti birbirine karıştırılarak tekrar vortexlendi. Karışım, 4 ml miktarında %3'lük PVA içerisinde peristaltik pompa ile dakikada 5 ml akış hızında buz bulunan ortamda %80 Volt şiddetinde 90 saniye boyunca sonike edilerek aktarıldı. Dış fazlarını oluşturmak için ise 35 ml %0,1'lik PVA dakikada 2 ml akış hızı ile peristaltik pompayla, homojen olması için manyetik karıştırıcı üzerinde karışımın içerisinde eklendi. Daha sonra, karışım çözücünün buharlaşması amacıyla 700 rpm'de manyetik karıştırıcı üzerinde 4 saat boyunca karıştırıldı. 4 saatin sonunda sulu nanopartikülleri katı hale getirmek ve nanopartiküllerin yüzeyinde yer alabilecek kalıntıları uzaklaştırmak için öncelikle çöktürme ve ardından 3 yıkama işlemi gerçekleştirildi. Çöktürme, çözeltilerin 4°C'de ve 9000 rpm'de 40 dakika santrifüjlenmesi ile gerçekleştirildi, üst faz ayrı bir behere alınırken kalan alt faza yıkama işlemi için her seferinde 35 ml distile su eklenerek 4°C'de ve 9000 rpm'de 40'ar dakika olacak şekilde 3 kez santrifüjlendi. Üst fazlar, gelecek hesaplamalar için her defasında aynı behere toplandı. 3 yıkama işlemi sonunda elde edilen nanopartiküllere distile sudan 5 ml eklenerek homojen hale getirildi. Homojen çözelti liyafizatör kullanılarak 2 gün kurutuldu ve daha sonraki kullanımlar için -20°C'de saklandı. Böylece genistein yüklü nanopartiküller (GenNP'ler) üretildi.



Şekil 3.1 Tekli emülsiyon w/o çözücü evaporasyon yöntemi kullanılarak GenNP'lerin üretimi

3.2.3 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Reaksiyon Verimi, Enkapsülasyon Etkinliği ve Etken Madde Yükleme Veriminin Hesaplanması

Elde edilmiş genistein yüklü katı nanopartiküllerin reaksiyon verimi (RV), enkapsülasyon etkinliği (EE) ve etken madde verimi (DL) nanopartiküllerin karakterizasyonu amacı ile hesaplandı.

3.2.4 Reaksiyon Verimi (RV) Hesaplanması

Liyafizatörde 2 gün kurutulularak -20 °C'de saklanılan katı partiküller çıkartıldı ve hassas tartı ile tartılarak, üretilen nanopartikül miktarı belirlendi. Elde edilmiş olan katı nanopartiküllerin reaksiyon verimi ölçülen nanopartikül miktarı aşağıda verilen eşitlikte (3.1) kullanılarak hesaplandı:

$$RV(\%) = \frac{\text{Üretilen GenNP miktarı (mg)}}{\text{Başlangıç PLGA miktarı (mg)+Başlangıç Genistein miktarı (mg)}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.5 Enkapsülasyon Etkinliği (EE) Hesaplanması

Üretilmiş olan nanopartiküllerin enkapsülasyon etkinliği hesaplamasında daha önce yapılan sentrifüjler sonucu beherde toplanan üst fazla ile birlikte genistein için çizilen kalibrasyon eğrisi kullanıldı. 264 nm'de UV spektrum kullanılarak üst fazda bulunan genistein miktarı ölçülen UV spektrum değerlerinden hesaplandı. Hesaplanan bu yüklenmemiş madde miktarı, başlangıçtaki toplam genistein madde miktarından çıkartılarak nanopartiküllerin içerisine yüklenen genistein miktarı belirlenmiştir. Daha sonra, EE hesaplaması için bu değerler, aşağıda verilen denklik (3.2) üzerinde kullanılmıştır:

$$EE(\%) = \frac{\text{Nanopartikül içerisine yüklenen Genistein miktarı (mg)}}{\text{Kullanılan Genistein miktarı (mg)}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.6 Etken Madde Yükleme Veriminin (DL) Hesaplanması

Enkapsülasyon etkinliği hesaplanması sırasında bulunan nanopartikül içerisine yüklenen genistein miktarı ve üretilmiş olan toplam katı nanopartikül miktarı aşağıdaki denklikte (3.3) kullanılarak etken madde verimliliği hesaplanmıştır:

$$EE(\%) = \frac{\text{Nanopartikül içerisine yüklenen Genistein miktarı (mg)}}{\text{Sentezlenen toplam katı nanopartikül miktarı (mg)}} \times 100 \quad (3.3)$$

3.2.7 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Elde edilmiş olan katı nanopartiküllerin boyutunu ve zeta potansiyelini ölçmek için ZetaSizer kullanılarak, kimyasal bağ analizini yapmak için ise FT-IR kullanılarak fizikokimyasal karakterizasyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.7.1 Boyut ve Zeta Analizi

Elde edilmiş olan katı nanopartiküllerin boyut analizi dinamik ışık saçılması yöntemi ile, zeta potansiyeli ölçümleri kapiler kuvvetler kullanılarak faz analizi ışık saçılması ile, ZetaSizer Nano Z (Malvern Instruments, UK) cihazı kullanılarak yapılmıştır. Yapılan analizlerin tamamı 25°C'de 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.7.2 FT-IR Analizi

PLGA polimeri, serbest genistein ve GenNP'nin fonksiyonel gruplarının saptanması amacı ile üç tekrarlı olacak şekilde FT-IR ile analizleri ATR ataçmanı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.8 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin In-vitro Salınımı

Sentezlenen genistein yüklü katı nanopartiküllerden hassas tartı ile 2 ayrı şekilde 3'er mg tartılarak, 2 farklı 3 ml PBS (pH:5,5 ve pH:7,4) içerisine konularak çözdürüldü ve sonrasında 200 rpm ve 37°C'de yatay çalkalayıcıda çalkalanmak üzere bırakıldı. Öncelikle 4 saat boyunca saat başı, daha sonrasında 30 gün boyunca belli aralıklarla olmak üzere örnekler, 9000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlem sonucunda elde edilen üst fazlar 264 nm'de UV spektrumda ölçüldü. Pelletlerin üzerinde UV spektrumda yapılan ölçümde kullanılan PBS kadar taze PBS eklendi. PH:7.4 PBS kullanılarak yapılan ölçümden elde edilen ölçüm değerleri kullanılarak in vitro'da nanopartiküllerden salınan genistein miktarlarının hesaplanması gerçekleştirildi.

3.2.9 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattının (MCF-7) Kültüre Edilmesi

Yapılan hücre kültürü çalışmaları laminer hava akış steril kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. MCF-7 hücrelerinin büyütülmesi 37°C'de %5 CO₂ içeren ortamda büyütüldü. Hücrelerin içinde tutulduğu besiyeri olarak %10 FBS içeren tamamlanmış sıvı besiyeri kullanıldı.

Tablo 3.5 İnsan meme kanseri hücre hattının özellikleri [112]

MCF-7(HTB-22™)	
Organizma	Homo sapiens, insan
Hücre tipi	Epitel hücre
Morfoloji	Epitel
Doku	Göğüs
Hastalık	Adenokanser
Ürün formatı	Dondurulmuş

3.2.9.1 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattının (MCF-7) Açılması

-80°C'de saklanan MCF-7 insan meme kanseri hücre hattı 37°C'de bulunan steril distile su içerisinde alınarak çözdürüldü. Çözülen hücreler, hücrelerin içinde bulunduğu DMSO'dan zarar görmesini engellemek adına hızlı bir şekilde üzerlerine tamamlanmış besiyeri eklenerek falkon tüp içine alınmış ve sonrasında 5 dakika boyunca 1000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Bu işlem ile oluşan süpernatant kısım atılırken, pellet kısmına bir miktar tamamlanmış besiyeri eklenerek pipetaj yapılmıştır. Buradaki hücrelerin, hücre sayımı sonrası hücre yoğunlukları dikkate alınarak uygun boyutta görülen T25 ve T75'lik flasklara ekimleri yapılmış ve ardından hücreler gün gün hücre tutunma oranları mikroskop ile izlenerek, 2 ile 3 gün arası süre ile 37°C'deki %5 CO₂'li nem içeren inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Gözlem sonucu gerekli görüldüğünde besiyeri değiştirilmiştir. Hücre büyümesi ve tutunması %70 ile %80 arası yoğunluğa ulaştığı gözlemlendiğinde hücreler pasajlanmıştır.

3.2.9.2 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattı MCF-7'nin Pasajlanması

İnsan meme kanseri MCF-7 hücrelerinin büyümesi ve tutunması %80-%90 arası yoğunluğa ulaştığında hücrelerin pasajlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, besiyerleri, pasajlanmaya hazır hücrelerden uzaklaştırılmış, daha sonrasında hücreler, PBS kullanılarak yıkanmış ve geriye kalmış olabilecek besiyeri ile olası hücre artıkları da hücrelerden iyice uzaklaştırılmıştır. Yıkama işleminin ardından,

flasklara tutunmuş olan hücreler, üzerlerine 1x Tripsin-EDTA eklenerek 37°C'de olan inkübatör içerisinde yaklaşık olarak 2-3 dakika bekletilerek, tripsin ile hücrelerin kalkması sağlandı. Kalkma işleminin gerçekleşip gerçekleşmediği mikroskopla kontrol edilerek, gerekli durumlarda bekleme süresi uzatıldı. Hücrelerin kalkması sağlandıktan sonra tripsin aktivitesini inaktive hale getirmek adına eklenmiş olan tripsin miktarının en az 2 katı miktarda tamamlanmış %10 FBS içeren besiyeri hücrelerin üzerine eklendi ve 15ml'lik falkon tüpler içerisine aktarıldı. 1000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlem sonrasında oluşan süpernatant kısım atıldı, pellet üzerine ise yeni tamamlanmış besiyesi eklenerek pipetajlandı. MCF-7 hücreleri, hücre yoğunlukları göz önünde bulundurularak, homojen şekilde yeni T25 veya T75'lik flasklara aktarıldı. Flasklar 37°C'de %5'lik CO₂ içeren inkübatör içerisine koyularak inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.9.3 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattının (MCF-7) Hücre Sayımı

Hücre sayımı için tripan mavisi testi kullanıldı. Öncelikle hücreler pasaj aşamasında gerçekleşen aşamalardan geçirilerek, santrifüj sonrası elde edilen hücre pelleti, üzerine taze besi yeri eklenerek hücre süspansiyonu elde edildi. Bu süspansiyondan 100 µl alınarak, 100 µl tripan mavisi ile karıştırıldı. Bu aşamada homojen dağılım sağlanması için pipetaj yapıldı. Elde edilen karışımdan 100 µl alınarak, Thoma lamına koyuldu. Thoma lamındaki 16 bölge arasından rastgele seçilen 4 bölgedeki, tripan mavisi ile boyanmayan, yani canlı olan hücreler ışık mikroskobu altında 3 farklı gözlemci tarafından sayıldı. Toplam canlı hücre sayısı, sayılan hücre miktarlarının ortalaması, dilüsyon faktörü (DF), pellet üzerine eklenen toplam besiyeri hacmi (ml cinsinden), 10⁴ ile çarpılarak bulundu. Yapılan işlem sırasında, boya-hücre karışımı oluşturulurken 1:1 oranında kullanımdan dolayı işlem sırasında, dilüsyon faktörü 2 olarak alındı.

3.2.9.4 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattının (MCF-7) Dondurulması

MCF-7 hücre hattının bir kısmı daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere stok oluşturmak amacıyla donduruldu. Dondurulma işlemi için %90 FBS ve %10 DMSO içeren dondurma solüsyonu hazırlandı. Flasklarda yer alan hücreler, pasajlanma aşamasında yer alan aşamalardan geçtikten ve santrifüj edildikten sonra elde edilen pelletteki hücreler ml başına 10⁶ hücre olacak şekilde sayıldıktan

sonra, dondurma solüsyonu ile birlikte kriyotüplere alındı. Sonrasında kademeli olarak dondurma gerçekleştirildi. Kriyotüplerin içinde olan hücreler, öncelikle içerisinde izopropanol bulunan soğutma kabına konularak 24 saat boyunca -80°C'de bekletildikten sonra, -196°C'de olan sıvı azot tankına aktarılarak uzun süreli saklama amacıyla depolandılar.

3.2.10 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin in vitro Biyolojik Etkinliğinin Araştırılması

Üretilen genistein yüklü katı nanopartiküllerin in vitro biyolojik etkinliğinin araştırılması için MTT Assay gerçekleştirildi. MTT ile birlikte serbest genisteinin ve nanopartikül içine enkapsüle edilmiş genisteinin (GenNP), insan meme kanseri hücre hattı olan MCF-7 üzerindeki sitotoksik etkisi gözlemlendi.

3.2.10.1 MTT Assay

İnsan meme kanseri hücre hattı MCF-7 hücreleri 96 kuyusu bulunan mikroplağa, kuyu başına 10000 hücre gelecek şekilde ekildikten sonra büyümeleri ve kuyulara tutunmaları amacıyla 24 saat boyunca 37°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübasyona bırakıldı. 24 saatin sonunda hücrelerin besiyerlerinin taze besiyeri ile değiştirmelerinden ardından, literatürde kullanılan dozlar takip edilerek belirlenen dozlarda serbest genistein ve GenNP, hücrelerin üzerine uygulandı. Bu uygulama sonucunda mikroplağa 48 saat boyunca 37°C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübasyona bırakıldı. Belirlenen sürelerin sonunda mikropklardaki her bir kuyuya 50 µl MTT solüsyonu eklenerek mikropklak 3 saat inkübatöre bırakıldı. Bu sürenin sonunda MTT solüsyonları kuyucuklardan uzaklaştırıldı, sonrasında her bir kuyuya 100 µl DMSO eklendi. Bu sayede hücreler üzerinde oluşmuş olan formazan kristalleri çözdürüldü. 570 nm dalga boyunda, ELISA okuyucu ile hücrelerin absorbans değerleri belirlendi. Bu değerler kullanılarak % hücre canlılıkları ve IC₅₀ değerleri hesaplandı. % hücre canlılıklarının bulunması için 570 nm dalga boyunda ölçülen deney grubunun absorbans değer ortalamasının kontrol grubunun absorbans ortalaması değerine bölümünün 100 ile çarpılması işlemi kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık ve IC₅₀ değeri Graphpad prism ile analiz edilmiştir.

3.2.10.2 Yara İyileşme Testi

MCF-7 hücrelerinin 24 kuyucuklu mikrolakalar içerisine her kuyuda 75.000 hücre olacak şekilde ekimi yapıldı. Hücreler 24 saat inkübasyona bırakıldı, 24 saat sonunda hücre yoğunluğu yaklaşık olarak %80'e ulaştığında hücrelerin bulunduğu besiyerinde değişiklik yapılmadan 200 µl'lik bir sarı pipet ucu ile mikrolakalarda bulunan her bir kuyunun orta kısmına üstten başlanarak aşağı yöne doğru ince ve düz bir çizgi çekildi ve hücrelerin arasında ince bir boşluk oluşturuldu. Daha sonra kuyular serumsuz besiyeri ile yıkanarak yüzen hücreler uzaklaştırıldı. Besi yeri dikkatli bir şekilde yenisiyle değiştirildi. 48 saatlik MTT ile belirlenen IC₅₀ değeri kullanılarak, uygulanacak serbest genistein hesaplandı ve hücrelerin üzerine eklendi. 0., 16., 24., ve 48. saatlerde hücrelerin görüntüleri kaydedildi. Kaydedilen görüntülerdeki yara alanları "ImageJ" programı kullanılarak 3 tekrarlı olarak ölçüldü. Yara kapanma oranları 3.4'te verilen formül ile hesaplandı [113], [114].

$$\text{Yara kapanma \%} = \left(\frac{A_{t=0h} - A_{t=\Delta h}}{A_{t=0}} \right) * 100 \quad (3.4)$$

$A_{t=0h}$ yara modeli oluşturulduktan hemen sonra ölçülen yara alanıdır $t = 0h$

$A_{t=\Delta h}$ yara modeli oluşturulduktan N h saat sonra ölçülen yara alanıdır $t = \Delta h$

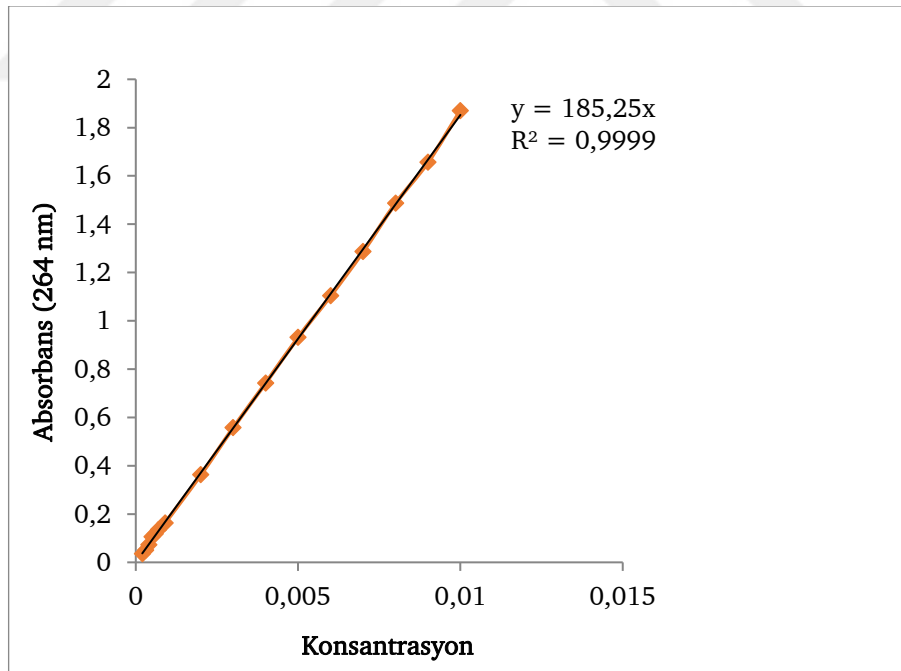
3.2.10.3 İstatiksel Analiz

Bu çalışmadaki her bir deney üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistiksel anlamlılık için GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Software, La Jolla, CA, ABD) programı kullanılarak analiz edilmiştir. İki bağımsız değişkenin bir bağımlı değişken üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde iki yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) kullanılmıştır. Deney grupları arasındaki farkın anlamlı olup olmadığını belirlemek için ise Tukey post hoc testi kullanılmıştır. Grafikte veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterilmiştir. Kontrol ve tedavi grupları arasında * $p \leq 0,05$ 'lik bir p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

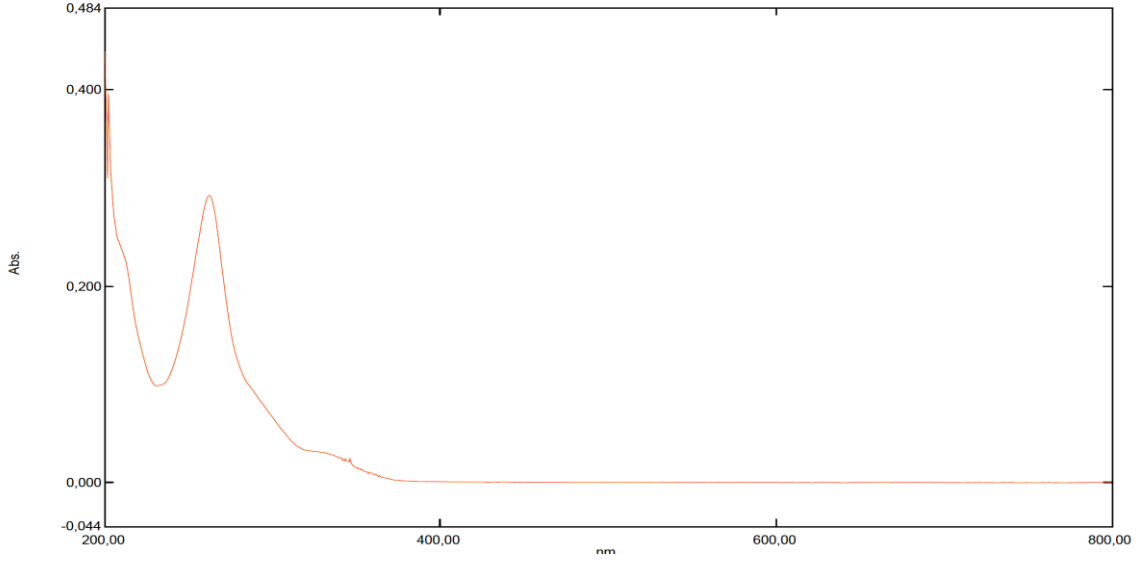
4.1 Genistein Moleküllerine Ait UV-Vis Spektrumları ve Kalibrasyon Eğrileri

4.1.1 Genistein Molekülüne Ait UV-Vis Spektrumu ve Kalibrasyon Grafiği

1 mg miktarında genistein molekülü 10 ml etanol içerisinde çözdürüldü. 0,1 mg/ml oranında çözelti hazırlandı. Hazırlanmış olan genistein çözeltisi seri dilüsyon yapılarak 0,01 mg/ml ile başlanarak 0,0001 mg/ml'a kadar 19 farklı konsantrasyona genistein çözeltileri elde edilerek UV spektrofotometrik analizleri gerçekleştirilmiştir. Dalga boyu olarak genisteinin pik verdiği absorbans değeri olan 264 nm kullanılmıştır. Elde edilen 19 farklı UV absorbans değerleri kullanılarak **Şekil 4.1**'de yer alan kalibrasyon eğrisi çizildi.



Şekil 4.1 Genistein molekülünün kalibrasyon eğrisi [115]



Şekil 4.2 Genistein molekülü 0.001 mg/ml konsantrasyonundaki UV-Vis Spektrumu

4.2 Genistein Yüklü PLGA Nanopartiküllerinin Sentezi

Bu tez çalışmasında kullanılmak üzere seçilen etken madde genisteindir. Genisteinin seçilmesinin nedenleri arasında meme kanserinde apoptozu indükleyebilmesi ve kanser büyümesini baskılaması vardır. [116]. Genisteinin sulu çözeltilerdeki düşük çözünme oranı vardır [117]. Bu yüzden nanopartikül sistem içerisine enkapsüle edilmesine karar verilmiştir. Nanopartikül sentezi tekli emülsiyon çözücü uçurma metodu (o/w) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemin seçilmiş olmasının amacı etken maddesinin suda düşük çözünürlüğe sahip olması ve bu çalışmadan kullanılmak üzere tek bir etken madde seçilmiş olunmasıdır [104]. PLGA kullanılmasının sebebi ise biyolojik çözünme yetisi, düşük toksisiteye sahip olması, kontrollü ilaç salınımı imkanı sağlamasıdır [103], [104]. PLGA'nın FDA ve EMA tarafından insanlarda ilaç taşıma sistemi olarak kullanılması onaylanmış olması da bu seçimin yapılmasında etkili olmuştur [108].

Sonuç olarak, 3 mg genistein, 100 mg PLGA içerisine enkapsüle edilmiştir. Genistein yüklü nanopartiküller (GenNP'ler) üretilirken stabilizasyon için iç faz olarak %3'lük 4 ml PVA, dış faz olarak da %0,1'lik 35 ml PVA kullanılmıştır. Nanokapsülleme işlemi için 80W'de sonikasyon gerçekleştirilmiş ve işlem 90 saniye sürmüştür. Böylece GenNp'ler oluşturulmuştur.

4.3 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Reaksiyon Verimi, Enkapsülasyon Etkinliği ve Etkin Madde Yükleme Verisi

4.3.1 Reaksiyon Verimi (RV)

1 mg genistein ile 100 mg PLGA kullanılarak gerçekleştirilen enkapsülasyonun reaksiyon verimi (RV) %23,3 olarak hesaplanmıştır.

4.3.2 Enkapsülasyon Etkinliği (EE)

Bu çalışmada kullanılan nanopartiküllerin üretilmesi sırasında elde edilen üst fazlar toplanmış ve UV absorbans değerleri 264 nm'de ölçülmüştür. Ölçülen bu değerler ile enkapsüle olmayan genistein miktarı hesaplanmıştır. Elde edilen verilere göre, GenNP'lerde kullanılan 3 mg genistein maddesinden 2,523 mg genistein enkapsüle edilmiştir. Bu durumda, enkapsülasyon etkinliği (EE) %84,1 olarak belirlenmiştir. Wu ve arkadaşlarının karaciğer kanseri üzerine yaptığı çalışmada ürettiği genistein yüklü PLGA nanopartiküllerinde EE %82,78 olarak belirlenmiştir [118]. %82,78'lik sonuç, tez çalışmasında elde edilen %84,1'lik EE sonucuna oldukça yakın bir değerdedir. Tezde yapılan çalışma literatürle uyumluluk göstermiştir ve yüksek seviyede %EE bulunmaktadır.

4.3.3 Etkin Madde Yükleme Verimi (DL)

Etkin madde yükleme verimi (DL) %13,86 olarak belirlenmiştir. Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ürettiği genistein yüklü PLGA nanopartiküllerinde DL %8,56 olarak belirlenmiştir [118]. Yine tez çalışmasında literatürle uyumlu bir sonuç elde edilmiştir. Literatürde modifiye PLGA çekirdekleri ile yapılan çalışmalarda ise daha yüksek DL elde edilmiş bulunmaktadır. DL'nin daha yüksek olma sebebinin yapılan bu modifikasyonlar ile genisteinin hidrofobik özelliğini kullanılarak daha yüksek bağlanma afinitesi elde edilmesi olduğu düşünülmektedir [118]. Bu durum modifiye edilmemiş PLGA ile genistein arasında düşük bağlanma afinitesi olduğunu göstermektedir.

Yüksek etkin madde yükleme verimi tercih edilmektedir. Bu durum yüksek DL olduğunda polimerlerin daha az kullanılabileceğinden kaynaklanmaktadır [119]. Fakat deney sonucunda elde edilen düşük DL sebebiyle bu konuda bir avantaj sağlanamamıştır.

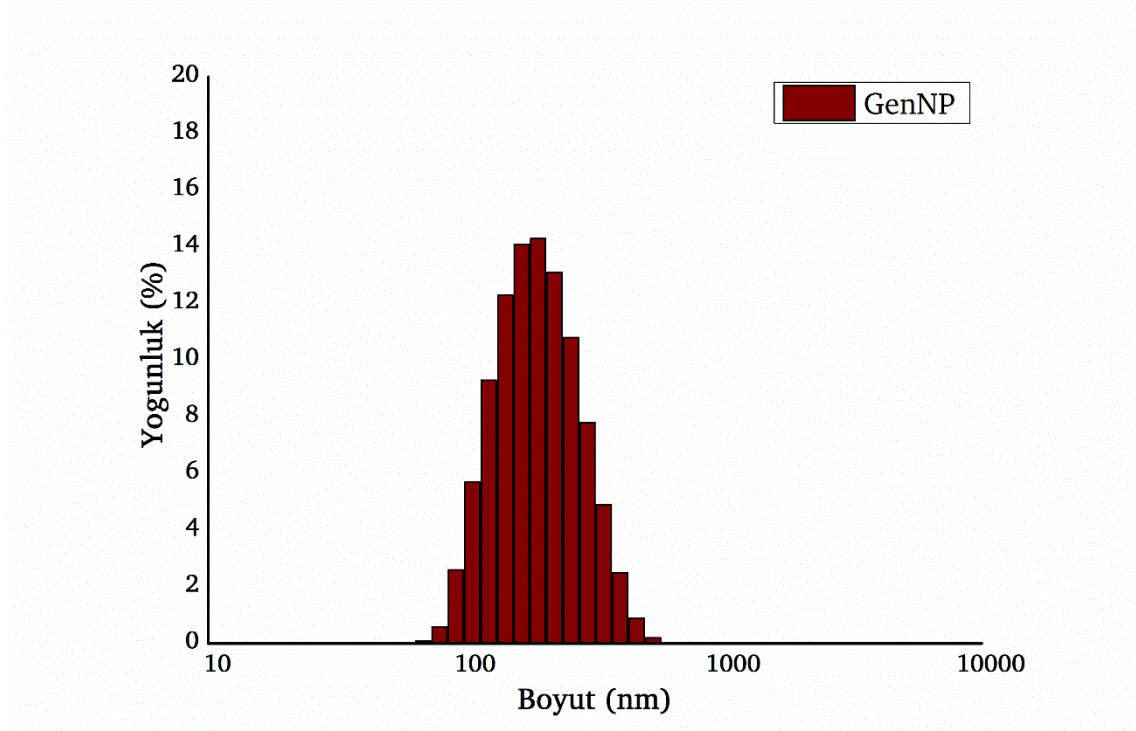
4.4 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

4.4.1 Boyut Analizi ve Çoklu Dağılım İndeksi (PDI)

Çalışmada üretilmiş olan GenNP'lerin boyut analizi Zetasizer Nano Z cihazı kullanılarak iç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Nanopartiküllerin ortalama boyutu $144,4 \pm 6,28$ nm olarak belirlenmiştir. Yine Zetasizer Nano Z cihazı kullanılarak, çoklu dağılım indeksi (PDI), $0,194 \pm 0,014$ olarak belirlenmiştir.

Nanopartiküllerin boyutunun önemi büyüktür. Meme kanserinin tedavisinde nanopartiküllerin kullanımı gibi uygulamalar için en etkili boyutların 100 ile 200 nm boyut aralığında olduğu belirtilmiştir [120]. $144,4 \pm 6,28$ nm ortalama boyut ile, çalışmada üretilen GenNP'ler ideal boyut aralığındadır.

Şekil 4.3'te GenNP'lerin boyut dağılımı gösterilmektedir. Grafik incelendiğinde dağılımın dar bir alana yayıldığı ve en orta değerlerde daha yüksek bir yoğunluk olduğu görülmektedir. Aynı zamanda PDI değeri oldukça düşük olarak gözlemlenmektedir. Daha büyük PDI değerleri, nanopartiküllerin boyutunun daha geniş bir skalada olduğu anlamına gelirken küçük PDI değeri nanopartiküllerin boyutunun daha dar bir skalada ve homojen olduğunu göstermektedir [121]. Bu duruma bakılarak bu çalışmada üretilen nanopartiküllerin boyut dağılımının dar bir skalada ve homojen olduğu görülmektedir.



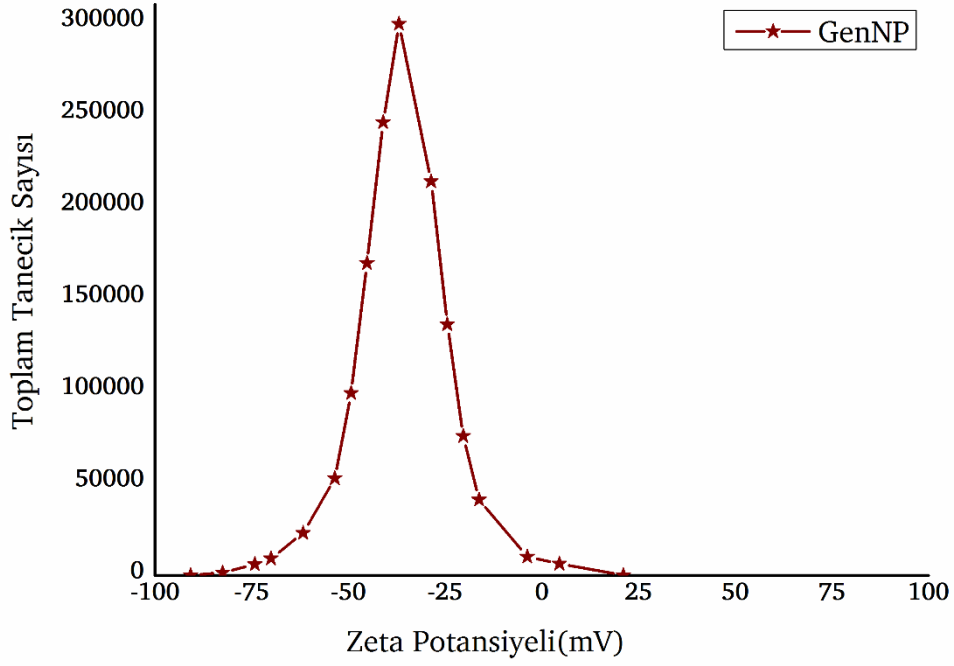
Şekil 4.3 GenNP'nin boyut dağılım analizi

4.4.2 Zeta Potansiyel Analizi

Kanser tedavisinde zeta potansiyeli önemlidir çünkü nanopartiküllerin yüzey yükünü gösterir. Pozitif değerler, pozitif yüklü nanopartikül yüzeyinin olduğunu gösterirken, negatif yüzeyler negatif yüklü nanopartikül yüzeyinin olduğunu göstermektedir. Yüzey yükü ise nanopartikülün vücuda girdiğinde, tümör içindeki yönünü belirlemektedir [122].

Çalışmada üretilmiş olan GenNP'lerin zeta potansiyelleri kapiler kuvvetler ile Zetasizer Nano Z cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Nanopartiküllerin zeta potansiyelleri $-31,46 \pm 1,05$ nm olarak ölçülmüştür. Şekil 4.4'te GenNP'lerin zeta potansiyeli analizinden elde edilen grafik gösterilmektedir.

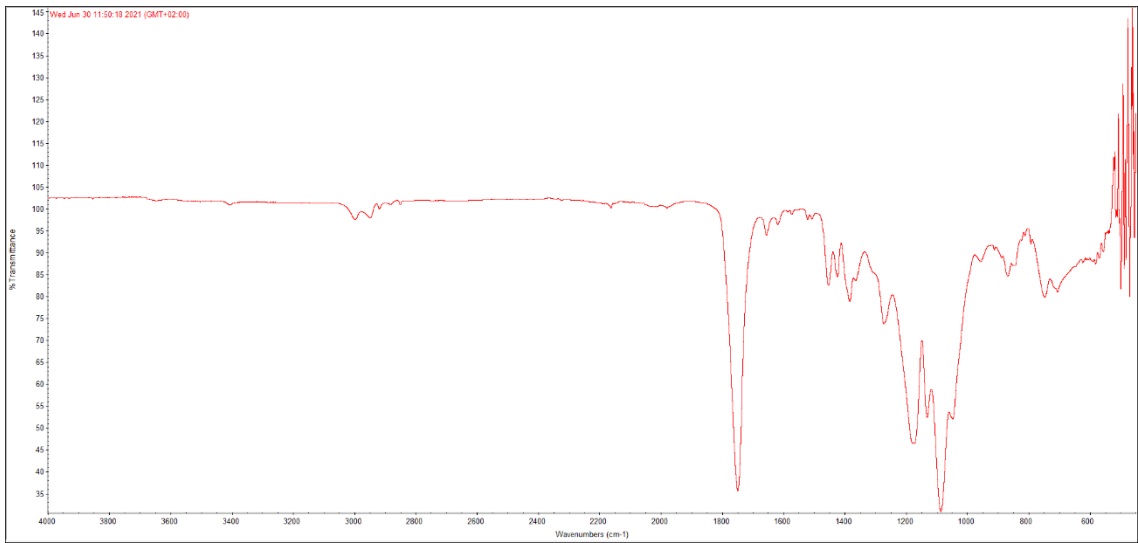
Çalışmada oluşturulan nanopartiküllerin yüzeyinin PLGA polimeri ile kaplanması beklenmektedir. Zeta potansiyelinin negatif çıkması literatüre göre beklenen bir sonuçtur. Negatif değerlerin sebebinin PLGA polimerinde bulunan karboksil grupları olduğu düşünülmektedir [123]. Bu durum PLGA polimerleri ile enkapsülasyonun başarılı şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.



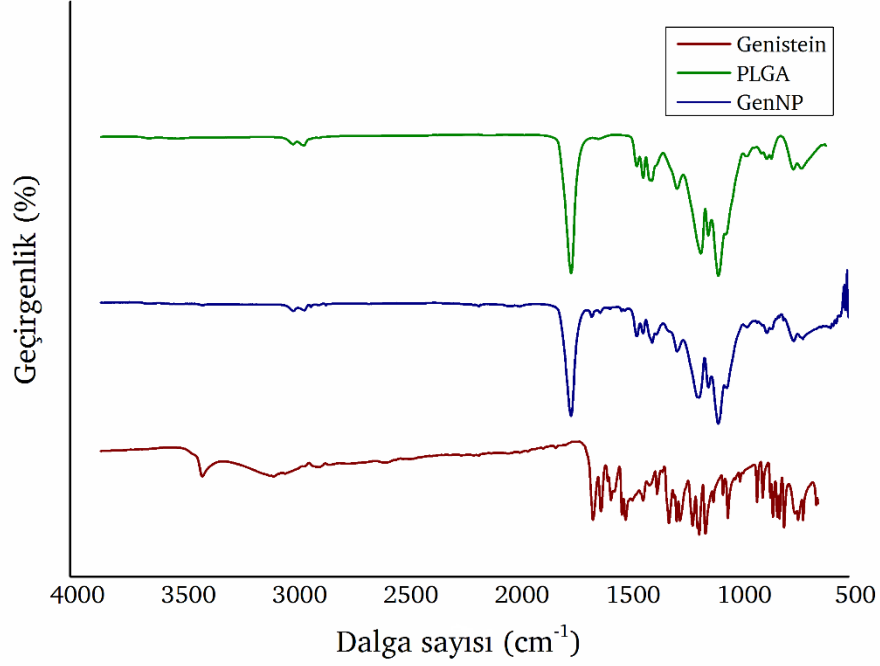
Şekil 4.4 GenNP'ye ait zeta potansiyeli grafiği

4.4.3 FT-IR Analizi

PLGA polimeri, serbest genistein ve genistein yüklenmiş nanopartikülün fonksiyonel gruplarının saptanması amacı FT-IR ile analizleri gerçekleştirilmiştir. GenNP'ye ait FT-IR spektrumu görüntüsü Şekil 4. 4'te verilmiştir. Genistein, PLGA ve GenNP'ye ait FT-IR spektrumları ise toplu halde Şekil 4. 5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5 GenNP'ye ait FT-IR spektrumu



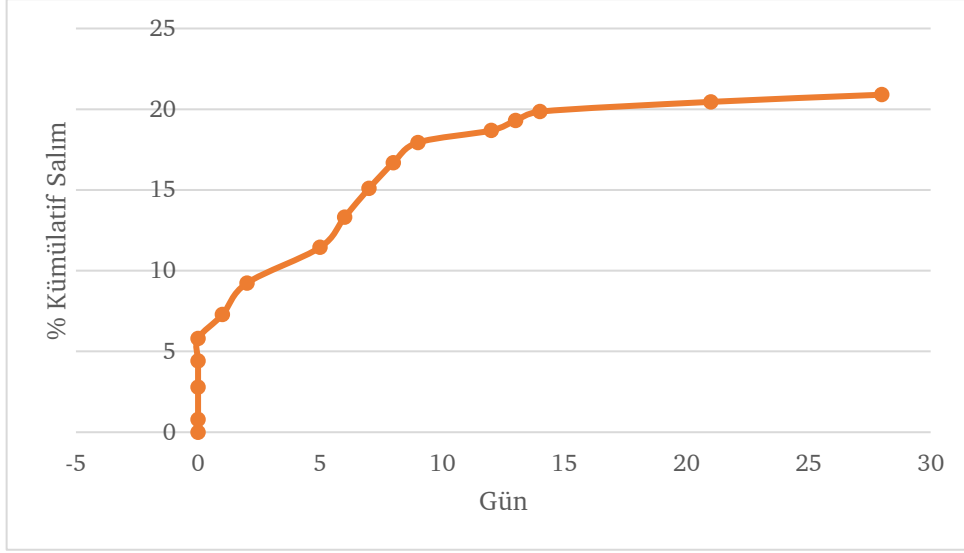
Şekil 4.6 Genistein, PLGA ve GenNP'ye ait FT-IR spektrumları

Şekil 4. 6'da karşılaştırmalı olarak GenNP, Genistein ve PLGA'ya ait olan FT-IR spektrumları incelendiğinde, GenNP'de PLGA'ya ait karakteristik piklerin değişmezken, genistein molekülüne ait düşük miktarda bant gözlemlenmiştir. Bu durumda genisteinin PLGA tarafından başarılı şekilde enkapsüle edildiğinde ve PLGA yüzeyinde sadece eser miktarda genistein bulunduğu gözlenilmektedir.

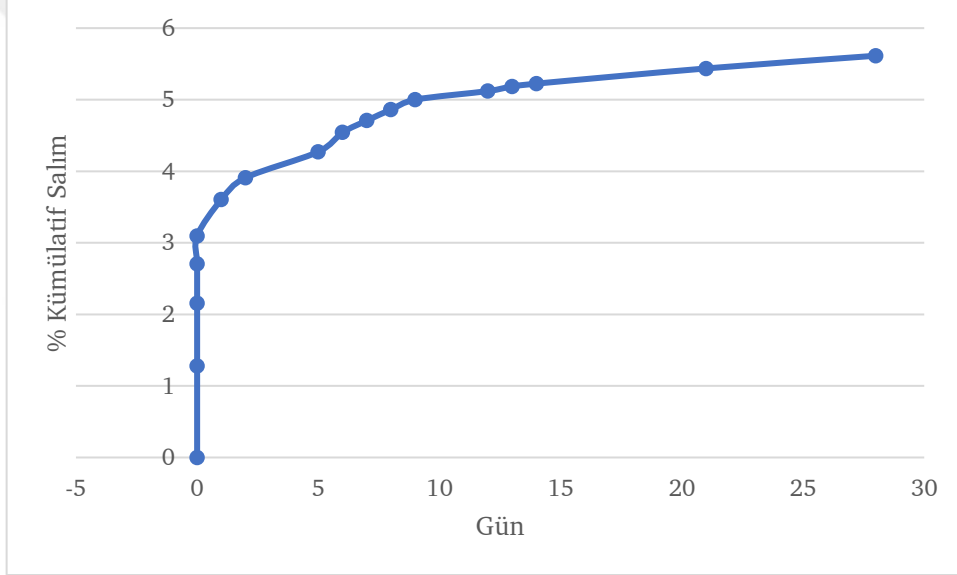
4.5 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin In Vitro Salım Analizi

İki farklı pH'a sahip PBS'ler (pH:5.5 ve pH:7.4) içerisinde çözdürülmüş olan sentezlenen genistein yüklü katı nanopartiküller yatay çalkalayıcı üzerine bırakılarak in vitro salım gerçekleştirildi. Örneklerin in Vitro salımları, öncelikle 4 saat boyunca saat başı, daha sonrasında 30 gün boyunca belli aralıklarla olmak üzere UV spektrumunda ölçüldü. Ölçümlerden elde edilen ölçüm değerleri kullanılarak **Şekil 4.7** ve **Şekil 4.8**'de verilen salım grafikleri oluşturulmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre 7,4 pH'ı olan PBS'te çözdürülen nanopartiküller 30 günün sonunda kümülatif olarak %20 salım yaparken, 5,5 pH'ı olan PBS'te çözdürülen nanopartiküller 30 günün sonunda kümülatif olarak %5,6 salım yapmıştır.



Şekil 4.7 GenNP'ye ait pH:7,4 ortamda kümülatif salım grafiği



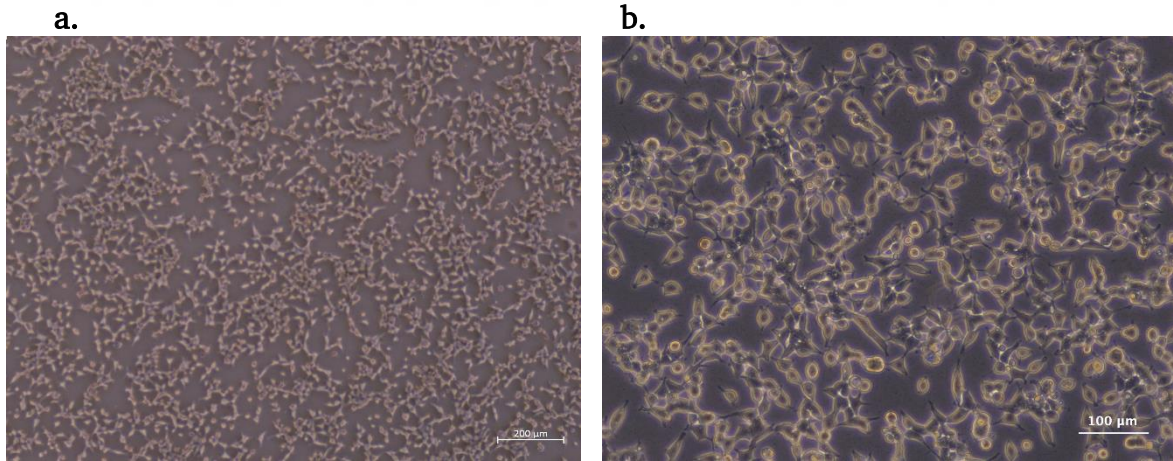
Şekil 4.8 GenNP'ye ait pH:5,5 ortamda kümülatif salım grafiği

İki salınım verisine göre de ilk 4 günde toplam salınımın yarısı gerçekleşmiştir. Bu durumun nanopartiküllerin dış yüzeye yakın kısmında zayıf şekilde kapsüllenmiş genisteinden kaynaklandığı düşünülmektedir [118]. Bu sebepler hızlı bir salınım gerçekleşmiştir. Salınan genisteinin diğer yarısı geri kalan 26 günde kontrollü olarak salınmıştır ve salınım 30 gün boyunca devam etmiştir. Burada salınan genisteinin iyi bir şekilde nanopartikülün çekirdeğine tutunarak enkapsüle edildiği düşünülmektedir [118].

5,5 pH'ı olan PBS'li ortamda toplam salınım 7,4 pH'ı olan PBS'li ortamdaki daha az olmuştur. Kanın pH'ı 7,4 seviyelerinde iken kanser hücrelerinin daha düşük pH ile daha asidik çevreye sahip olduğu bilinmektedir. Bu durumda kanser hücrelerindeki salımın daha yüksek olması tercih edilmektedir [124]. Elde edilen veriler ile genistein yüklü PLGA nanopartiküllerinde bu durumun tersi olduğu gözlemlenmiştir. Literatüre pH duyarlı PLGA nanoparçacık yüzeyleri yapmak üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Yüzey yükü modifiye edildikten sonra PLGA asidik çevrede daha çok salım yaparken, pH:7,4'te daha az salım yapmaktadır. Bu durumda sorun PLGA'nın yüzey yükünden kaynaklanıyor olabilirken, nanopartiküle yüzey modifikasyonu yapmak çözüm teşkil edebilir [125].

4.6 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin In Vitro Aktiviteleri

Laboratuvarında üretilmiş olan genistein yüklü PLGA nanopartiküllerinin (GenNP) in vitro hücre kültürü çalışmalarında kullanılan MCF-7 insan meme kanseri hücre hattının invert mikroskop görüntüleri Şekil 4.9'da verilmiştir. MCF-7 hücre kültürleri %10 FBS içeren DMEM besiyerinde %5 CO₂ bulunan 37°C'de olan ortamda büyütülmüştür.

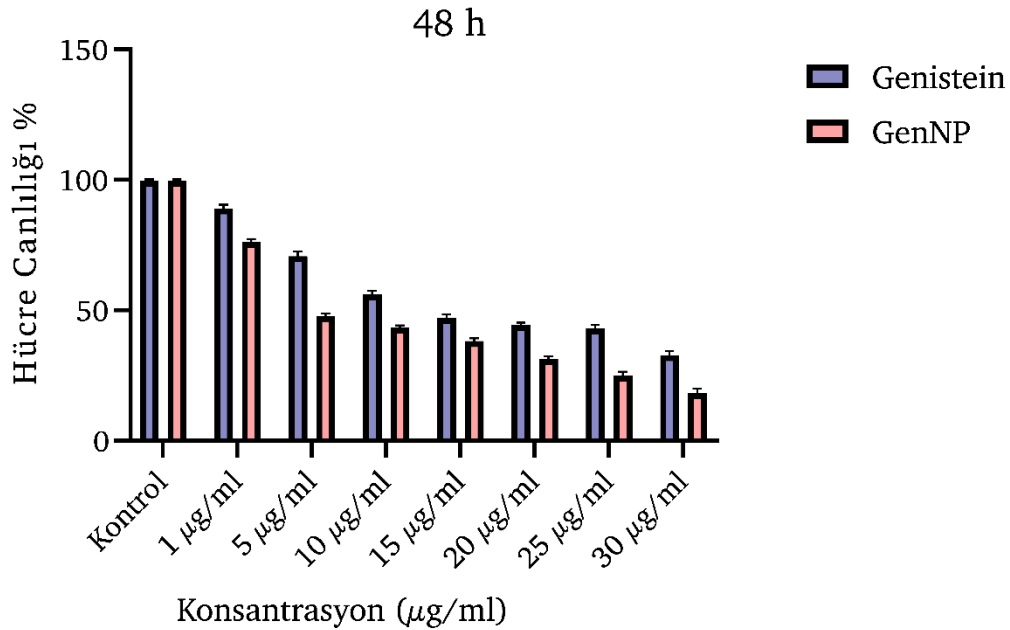


Şekil 4.9 MCF-7 hücrelerinin invert mikroskop görüntüleri (ölçek çubuğu:

a= 200 µm; b= 100 µm)

4.6.1 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin İnsan Meme Kanseri MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik Aktivitesi

Üretilen GenNP'nin ve genisteinin MCF-7 hücre hattındaki sitotoksik etkisini gözlemlemek amacıyla MTT yöntemi kullanılmış ve 48 saat sonunda sonuçlar alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre **Şekil 4.10**'da 48 saat boyunca uygulanan Genistein ve GenNP'nin MCF-7 hücrelerinin canlılığına etkisi gösterilmektedir. Genistein ve GenNP, ayrı ayrı 1 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 15 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml ve 30 µg/ml dozlarında üçer tekrarlı uygulanmış ve canlılık bu tekrarların ortalamaları alınarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre ise MCF-7 meme kanseri üzerinde GenNP'nin sitotoksik etkisinin genisteinden daha yüksek olduğu gözlemlenmektedir. Bunun sebebinin enkapsüle edilmiş genisteinin salımının daha kontrollü yapılabilmesi ve biyo-yararlanımının artmış olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir [79]. Bunlara bağlı olarak ise enkapsüle edilen genisteinin anti-kanser etkisinin tek başına kullanılan genisteinden daha yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 4.10 MCF-7 hücrelerine 48 saat boyunca uygulanan Genistein ve GenNP'nin hücre canlılığına etkisi (ortalama ±SD).

MCF-7 hücrelerine farklı konsantrasyonlarda uygulanan Genistein ve GenNP'nin 48 saat inkübasyon süresi sonrasında IC₅₀ değerleri serbest genistein için 5,924

$\mu\text{g/ml}$ ve GenNP için $3,784 \mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır. IC_{50} değerleri literatürde daha önce MCF-7 hücre hattı üzerinde denenmiş olan genisteinin IC_{50} değerlerine yakın bir değer çıkmıştır, bu yüzden sonuç literatür ile uyumludur [126], [127]. GenNP'nin IC_{50} değeri genisteinden daha düşük çıkmıştır. Bu da GenNP'nin daha düşük konsantrasyonlarda genisteinden daha yüksek sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

4.6.2 Genistein Yüklü Nanopartiküllerin İnsan Meme Kanseri MCF-7 Hücreleri Üzerindeki Hücre Göçü Etkisi

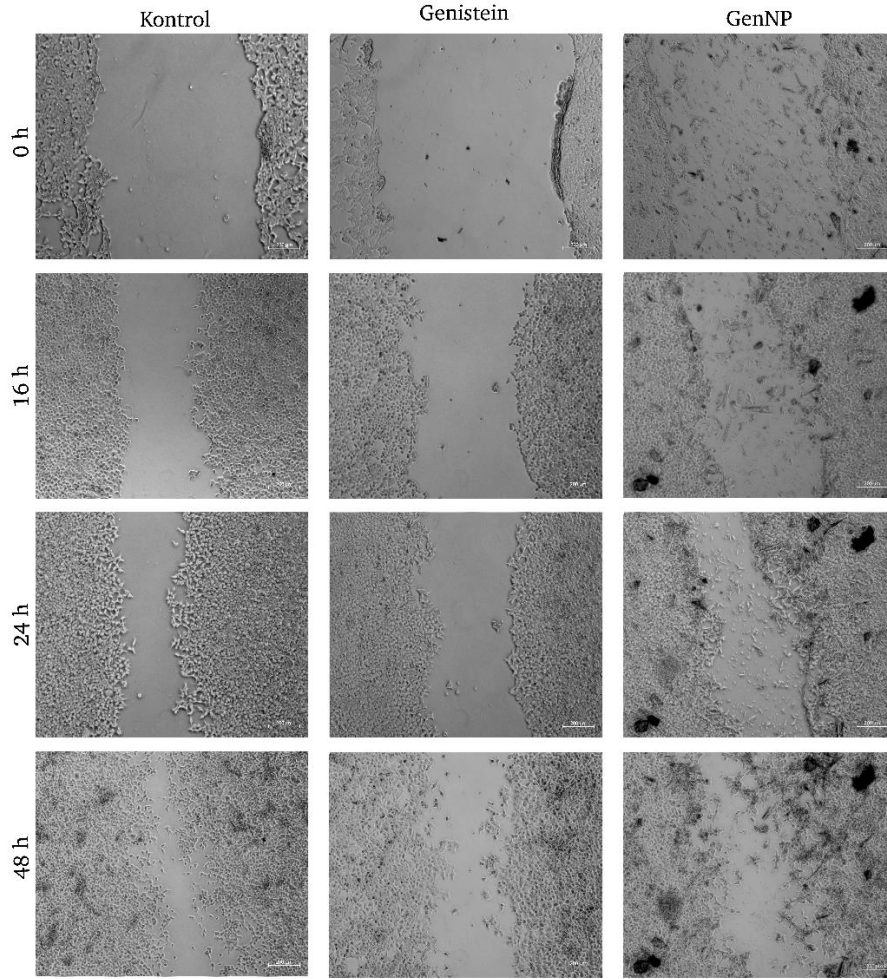
Genisteinin ve GenNP'lerin, MCF-7 hücreleri üzerindeki hücre göçüne etkisi yara iyileşmesi deneyi yapılarak incelenmiştir. Gözlem için 0. saatte oluşturulan yara, 16. saatte, 24. saatte ve son olarak ise 48. saatte ise oluşturulan yaranın kapanması görüntüleri alınarak incelenmiş ve **Şekil 4.11**'de paylaşılmıştır. Yüzde yara iyileşmeleri **Tablo 4.1**'de gösterilmektedir. Verilere göre kontrol grubunda yani hem genisteinin hem de GenNP'nin verilmediği grupta 16. saatte %53'lük, 24. saatte %71'lik ve 48. saatte %89'luk yara kapanması görülürken, sadece genistein verilen grupta bu oranlar daha azdır. Genistein grubunda 16. saatte %46'luk, 24. saatte %60'luk ve 48. saatte %68'lik yara kapanması görülmüştür. GenNP verilen grupta ise yara iyileşmesi 16. saatte %35, 24. saatte %51 ve 48. saatte %57'dir. Sonuç olarak genisteinin yara iyileşmesini geciktirdiği gözlemlenirken, enkapsüle edilmiş genisteinin yara iyileşmesini geciktirme özelliğinde artış görülmektedir. GenNP'ler genisteinin etkisini artırarak hücre migrasyonunu azaltmaktadır.

Tablo 4.1 MCF-7 meme kanseri hücrelerinde Genistein ve GenNP'nin hücre göçü üzerine etkisinin kümülatif % yara kapanma oranları

	Kontrol	Genistein	GenNP
16 h	%53,24	%46,84	%35,94
24 h	%71,14	%60,58	%51,36
48 h	%89,12	%68,22	%57,41

Temel olarak hücre göçü, hücreler için çok önemlidir çünkü fizyolojik gelişim, dokuların onarılması ve yenilenmesi gibi çok önemli işlevler için gereklidirler [128]. Fakat kanser hücrelerinde gerçekleşen hücre göçleri metastaza sebep

olmakta ve kanser türlerinin ölümcül olmasının başta gelen sebepleri arasında yer almaktadır [128], [129]. Bunun yanı sıra cerrahi müdahale ile alınan meme tümörlerinde, müdahaleden sonraki 10 yılın içerisinde hastaların yaklaşık olarak %30'unda başka dokulara metastaz gerçekleşmektedir [130]. Bu sebeplerden dolayı kanser hücrelerinde metastazı yani hücre göçünü engellemek veya en aza indirmek önemlidir [128]–[130].



Şekil 4.11 MCF-7 meme kanseri hücrelerinde Genistein ve GenNP'nin hücre göçü üzerine etkisi (ölçek çubuğu: 200 µm; ortalama ±SD, *p ≤0.05)

5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan tez çalışmasında, meme kanserinde kullanılan geleneksel yöntemlerin yarattığı yan etkilere sahip olmayan, meme kanserine karşı alternatif bir tedavi ve önleme yöntemi olarak genistein maddesi, PLGA polimeri içerisine tekli emülsiyon (o/w) çözücü uçurma metodu kullanılarak enkapsüle edilmiş ve bu şekilde genistein yüklü nanopartiküller üretilmiştir. Amaç genisteinin, normalde var olan düşük suda çözünürlük ve düşük biyoyararlanım dezavantajlarını, genisteini nanopartikül içerisine enkapsüle ederek ortadan kaldırıp meme kanserine karşı etkinliğini gözlemektir ve deney boyunca gözlem MCF7 insan meme kanseri hücre hattı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Gözlem için genistein nanopartiküllerinin karakterizasyonu yapılmış, etken madde yani genisteinin nanopartiküllerden salınımı ölçülmüş, nanopartiküllerin sitotoksik etkileri ile hücre göçüne olan etkileri incelenmiştir.

Üretilen nanopartikül reaksiyon verimi %23,3 olarak belirlenmiştir. Kullanılan genisteinin %84,1'i nanopartiküllerin içine enkapsüle edilmiş ve bu oran enkapsülasyon etkinliği olarak kaydedilmiştir. Etken madde yükleme verimi %13,86 olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar literatürde yer alan çalışmalarla benzerlik göstermiştir.

GenNP'ler pH:7,4 ortamda 30 günüm sonunda toplamda %20 salım yaparken pH:5,5 ortamda 30 günüm sonunda toplamda %5,6 salım yapmış bulunmaktadır. Gelecek çalışmalarda salım GenNP'lere yüzey modifikasyonu yapılarak meme kanserinde daha yüksek olacak şekilde modifiye edilebilir.

Üretilmiş olan genistein yüklü nanopartiküllerin karakterizasyonu kapsamında partikül boyutunu, boyut dağılım indeksini (PDI) ve zeta potansiyel değerleri Zetasizer Nano ZS kullanılarak belirlenmiştir. Genistein yüklü nanopartiküllerin ortalama boyutu $144,4 \pm 6,28$ nm olarak ve PDI değeri $0,194 \pm 0,014$ olarak belirlenmiş olup, meme kanseri hücrelerine karşı kullanılabilir ideal boyut aralığındadır. Zeta potansiyeli $-31,466 \pm 1,05$ mV olarak belirlenmiştir. Negatif

zeta potansiyali, genisteinin PLGA polimerleri tarafından başarılı bir şekilde enkapsüle edildiğini göstermiştir.

Genisteinin ve GenNP'lerin, sitotoksik aktivitesinin MCF-7 hücre hattında belirlemek için MTT kullanılmıştır ve 48 saat inkübasyon ardından IC₅₀ değerleri genistein için 5,924 µg/ml ve GenNP'ler için 3,784 µg/ml olarak belirlenmiştir. Enkapsüle edilen genisteinin, genisteine kıyasla MCF-7 hücreleri üzerinde daha yüksek sitotoksik etkiye sahip olmakla birlikte, daha düşük konsantrasyonda bile genisteinden daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Genisteinin ve GenNP'lerin, MCF-7 hücreleri üzerindeki hücre göçüne etkisi yara iyileşmesi deneyi yapılarak 48 saat boyunca farklı aralıklarla incelenmiştir. 48 saatlik sürecin sonunda kontrol grubunda %89, sadece genistein verilen grupta %65 ve GenNP verilen grupta ise %57 oranında bir yara iyileşmesi belirlenmiştir. GenNP'lerin genisteinin etkisini arttırırken ve hücre migrasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak meme kanseri kadınlar için sık görülen ve ölüm oranı çok yüksek olan bir sorundur. Tedavisi için kemoterapi ve radyoterapi gibi klasik yöntemler bulunsa da bunların yan etkileri çok fazladır. Bu sebeple de daha doğal, daha az toksisiteye sahip ve daha etkili tedaviler aranmaktadır. Flavonoidler bu konuda umut vaat etmektedir. Hem bitkilerde bulunduğundan eldesi kolaydır hem de doğal olduğu için çok daha az toksiktir. Meme kanserinde özellikle genistein barındıran soya tüketimi gibi basit adımlarla bu hastalığın görülme riskinin büyük oranda azaltılabileceği görülmektedir. Hastalığa yakalandığı takdirde bile yine genistein gibi doğal olarak bitkilerden izole edilen flavonoid ile meme kanserinin oluşumuna ve gelişimine sebep olan çeşitli yollar hedef alınarak bir tedavi geliştirme umudu vardır. Fakat şu anda var olan çalışmalar küçük oranlarda olduğu için daha tedavi niteliği taşımazlar çünkü yeterince etkili değildir. Çalışmaların küçük ölçekli olması genisteinin küçük dozda çözünmesini yeterli kılsa da büyük ölçekli insan meme kanseri tedavisi için çok daha etkili olması gereklidir bu da ya başka ilaçlarla kombine edilerek ya da çok daha yüksek çözünürlük ile sağlanabilir. Bu özelliklerin sağlanılarak klinik deneylere başlanması gereklidir.

- [1] F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, ve A. Jemal, “Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries”, *CA Cancer J Clin*, c. 68, sy 6, ss. 394-424, Kas. 2018, doi: 10.3322/caac.21492.
- [2] R. Dhankhar, S. P. Vyas, A. K. Jain, S. Arora, G. Rath, ve A. K. Goyal, “Advances in novel drug delivery strategies for breast cancer therapy”, *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*, c. 38, sy 5. ss. 230-249, Eki. 2010. doi: 10.3109/10731199.2010.494578.
- [3] B. Costa, I. Amorim, F. Gärtner, ve N. Vale, “Understanding Breast cancer: from conventional therapies to repurposed drugs”, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, c. 151. Elsevier B.V., Ağu. 01, 2020. doi: 10.1016/j.ejps.2020.105401.
- [4] A. Wanchai ve J. M. Armer, “A systematic review association of reflexology in managing symptoms and side effects of breast cancer treatment: Reflexology & Breast Cancer”, *Complementary Therapies in Clinical Practice*, c. 38. Churchill Livingstone, Şub. 01, 2020. doi: 10.1016/j.ctcp.2019.101074.
- [5] L. Chen, H. Cao, Q. Huang, J. Xiao, ve H. Teng, “Absorption, metabolism and bioavailability of flavonoids: a review”, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, c. 62, sy 28. Taylor and Francis Ltd., ss. 7730-7742, 2022. doi: 10.1080/10408398.2021.1917508.
- [6] G. Shafiee, M. Saidijam, H. Tayebinia, ve I. Khodadadi, “Beneficial effects of genistein in suppression of proliferation, inhibition of metastasis, and induction of apoptosis in PC3 prostate cancer cells”, *Arch Physiol Biochem*, c. 128, sy 3, ss. 694-702, 2022, doi: 10.1080/13813455.2020.1717541.

- [7] G. Rassu *vd.*, “Intranasal delivery of genistein-loaded nanoparticles as a potential preventive system against neurodegenerative disorders”, *Pharmaceutics*, c. 11, sy 1, Oca. 2019, doi: 10.3390/pharmaceutics11010008.
- [8] S. H. Hassanpour ve M. Dehghani, “Review of cancer from perspective of molecular”, *Journal of Cancer Research and Practice*, c. 4, sy 4, ss. 127-129, Ara. 2017, doi: 10.1016/j.jcrpr.2017.07.001.
- [9] D. Hanahan, “Hallmarks of Cancer: New Dimensions”, *Cancer Discovery*, c. 12, sy 1. American Association for Cancer Research Inc., ss. 31-46, Oca. 01, 2022. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
- [10] J. Boyle, *Molecular biology of the cell, 5th edition by B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter*, 5. bs, c. 36, sy 4. New York: USA, 2008. doi: 10.1002/bmb.20192.
- [11] İ. Gökteş ve H. Cayvarlı, “The Role of 18F-FDG PET/CT in Evaluating Elevated Levels of Tumor Markers in Breast Cancer”, *Molecular Imaging and Radionuclide Therapy*, ss. 3-9, Şub. 2018, doi: 10.4274/mirt.74436.
- [12] N. Muniraj, S. Siddharth, ve D. Sharma, “Bioactive compounds: Multi-targeting silver bullets for preventing and treating breast cancer”, *Cancers*, c. 11, sy 10. MDPI AG, Eki. 01, 2019. doi: 10.3390/cancers11101563.
- [13] M. Türkyılmaz, M. Öztürk, S. Dünder, A. Kavak Ergün, S. Tütücü, ve E. Seymen, “Türkiye Kanser İstatistikleri 2017”, 2021.
- [14] B. Yokuş ve D. Ü. Ülker, “Kanser Biyokimyası”, 2012. [Çevrimiçi]. Available: <http://www.dicle.edu.tr/bolum/Muh/veteriner/dergi/>
- [15] K. Aizawa *vd.*, “Tobacco carcinogen induces both lung cancer and non-alcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinomas in ferrets which can be attenuated by lycopene supplementation”, *Int J Cancer*, c. 139, sy 5, ss. 1171-1181, Eyl. 2016, doi: 10.1002/ijc.30161.

- [16] H. Boix-Perales *vd.*, “The European Medicines Agency Review of Pertuzumab for the Treatment of Adult Patients With HER2-Positive Metastatic or Locally Recurrent Unresectable Breast Cancer: Summary of the Scientific Assessment of the Committee for Medicinal Products for Human Use”, *Oncologist*, c. 19, sy 7, ss. 766-773, Tem. 2014, doi: 10.1634/theoncologist.2013-0348.
- [17] V. Ozmen, “Breast Cancer in Turkey: Clinical and Histopathological Characteristics (Analysis of 13.240 Patients)”, *J Breast Health*, c. 10, sy 2, ss. 98-105, May. 2014, doi: 10.5152/tjbh.2014.1988.
- [18] B. Kankaya, S. Büyükaşık, S. Kapan, ve H. Alış, “Meme Kanseri Tedavisinde Güncel Yaklaşım”, İstanbul, Oca. 2009. Erişim: Ara. 22, 2022. [Çevrimiçi]. Available: <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/638691>
- [19] P. İ. Sert ve T. T. Küçükkılınc, “Current Approaches in Breast Cancer Treatment”, *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, c. 42, sy 1. Hacettepe University, Faculty of Pharmacy, ss. 46-59, 2022. doi: 10.52794/hujpharm.959879.
- [20] Y. Feng *vd.*, “Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis”, *Genes and Diseases*, c. 5, sy 2. Chongqing yi ke da xue, di 2 lin chuang xue yuan Bing du xing gan yan yan jiu suo, ss. 77-106, Haz. 01, 2018. doi: 10.1016/j.gendis.2018.05.001.
- [21] T. Kutluk ve A. Kars, “Meme Kanseri”, *Kanser Konusunda Genel Bilgiler*, ss. 67-69, 1992.
- [22] E. Tülübaş, “Meme Anatomisi”, <https://www.erkamtulubas.com/meme-hastaliklari/>, Ara. 23, 2022.
- [23] S. Aydınтуğ, “Meme Kanserinde Erken Tanı”, *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi*, Ankara, ss. 226-228, 2004. Erişim: Ara. 23, 2022. [Çevrimiçi]. Available: https://www.ttb.org.tr/STED/sted0604/m_kanser.pdf

- [24] K. H. Allison, “Molecular pathology of breast cancer: What a pathologist needs to know”, *American Journal of Clinical Pathology*, c. 138, sy 6. ss. 770-780, Ara. 2012. doi: 10.1309/AJCPIV9IQ1MRQMOO.
- [25] P. Eroles, A. Bosch, J. Alejandro Pérez-Fidalgo, ve A. Lluch, “Molecular biology in breast cancer: Intrinsic subtypes and signaling pathways”, *Cancer Treatment Reviews*, c. 38, sy 6. ss. 698-707, Eki. 2012. doi: 10.1016/j.ctrv.2011.11.005.
- [26] L. A. Carey *vd.*, “Race, Breast Cancer Subtypes, and Survival in the Carolina Breast Cancer Study”, 2006. [Çevrimiçi]. Available: <http://jama.jamanetwork.com/>
- [27] R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, ve A. Jemal, “Cancer statistics, 2022”, *CA Cancer J Clin*, c. 72, sy 1, ss. 7-33, Oca. 2022, doi: 10.3322/caac.21708.
- [28] K. Tarihi, “MEME KANSERİ VE KENDİ KENDİNE MEME MUAYENESİNİN ÖNEMİ Serap Parlar* Nesrin Kaydul* Nimet Ovayolu**”, 2005.
- [29] N. Gençtürk, İ. Üniversitesi, S. B. Fakültesi, ve E. Bölümü, “KADIN SAĞLIK PROFESYONELLERİNİN MEME KANSERİ ERKEN TANI YÖNTEMLERİNİ BİLME VE UYGULAMA DURUMLARI THE STATUS OF KNOWLEDGE AND PRACTICE OF EARLY DIAGNOSIS METHODS FOR BREAST CANCER BY WOMEN HEALTHCARE PROFESSIONALS”, 2013.
- [30] A. Kayhan ve E. Aribal, “Meme Kanseri Taraması: Neden Yapıyoruz? Ne Zaman? Değerlendirmede Yaşanan Sorunlar”, *Türk Radyoloji Seminerleri*, c. 2, sy 2, ss. 230-240, Eyl. 2014, doi: 10.5152/trs.2014.019.
- [31] L. Doğan, “Meme Kanserinde Tanı”, *Meme Kanseri Korunma, Tarama, Tanı, Tedavi ve İzlem Klinik Rehberi*, T.C. Sağlık Bakanlığı, Ankara, ss. 24-36, 2020. Erişim: Ara. 23, 2022. [Çevrimiçi]. Available:

http://www.tmhdf.org.tr/Uploads/Editor/tc_sb_meme_kanseri_klinik_rehber.pdf

- [32] S. Yu. Moorcraft, Daniel. Lee, ve D. D. Cunningham, *Clinical Problems in Oncology: a Practical Guide to Management*. Wiley, 2014.
- [33] J. P. Xue, G. Wang, Z. bin Zhao, Q. Wang, ve Y. Shi, “Synergistic cytotoxic effect of genistein and doxorubicin on drug-resistant human breast cancer MCF-7/Adr cells”, *Oncol Rep*, c. 32, sy 4, ss. 1647-1653, 2014, doi: 10.3892/or.2014.3365.
- [34] O. Baykara, “Current Modalities in Treatment of Cancer”, *Balıkesir Health Sciences Journal*, c. 5, sy 3, ss. 154-165, 2016, doi: 10.5505/bsbd.2016.93823.
- [35] C. C. Greenberg *vd.*, “Institutional variation in the surgical treatment of breast cancer: A study of the NCCN”, *Ann Surg*, c. 254, sy 2, ss. 339-345, Ağu. 2011, doi: 10.1097/SLA.0b013e3182263bb0.
- [36] M. Tünel, A. Vural, Y. E. Evlice, ve L. Tamam, “Arşiv Kaynak Tarama Dergisi Archives Medical Review Journal Meme Kanserli Hastalarda Psikiyatrik Sorunlar Psychiatric Problems in Patients with Breast Cancer”, 2012.
- [37] R. Baskar, K. A. Lee, R. Yeo, ve K. W. Yeoh, “Cancer and radiation therapy: Current advances and future directions”, *International Journal of Medical Sciences*, c. 9, sy 3. ss. 193-199, Şub. 27, 2012. doi: 10.7150/ijms.3635.
- [38] D. Kaya ve N. Kanan, “RADYOTERAPİ ALAN MEME KANSERLİ HASTALARDA AKUT CİLT REAKSİYONLARI ACUTE SKIN REACTIONS IN BREAST CANCER PATIENTS RECEIVING RADIOTHERAPY”, *Gevher Nesibe Journal of Medical & Health Sciences*, c. 7, sy 19, ss. 124-132, 2022, doi: 10.5281/zenodo.6976503.
- [39] S. Özgüç, H. Kayalar, ve U. Zeybek, “Meme kanserinde etkili tıbbi bitkiler ve sekonder metabolitleri”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık*

- Fakültesi Dergisi*, c. 42, sy 2, ss. 42-62, 2018, doi: 10.1501/eczfak_0000000606.
- [40] S. Hiller-Sturmhöfel ve A. Bartke, “The Endocrine System An Overview”, 1998.
- [41] I. H. Abdulkareem ve I. B. Zurmi, “Review of hormonal treatment of breast cancer”, *Nigerian Journal of Clinical Practice*, c. 15, sy 1. ss. 9-14, Oca. 2012. doi: 10.4103/1119-3077.94088.
- [42] A. di Leo *vd.*, “Results of the CONFIRM phase III trial comparing fulvestrant 250 mg with fulvestrant 500 mg in postmenopausal women with estrogen receptor-positive advanced breast cancer”, *Journal of Clinical Oncology*, c. 28, sy 30, ss. 4594-4600, Eki. 2010, doi: 10.1200/JCO.2010.28.8415.
- [43] F. Li, J. Dou, L. Wei, S. Li, ve J. Liu, “The selective estrogen receptor modulators in breast cancer prevention”, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, c. 77, sy 5. Springer Verlag, ss. 895-903, Oca. 20, 2016. doi: 10.1007/s00280-016-2959-0.
- [44] T. A. Moo, R. Sanford, C. Dang, ve M. Morrow, “Overview of Breast Cancer Therapy”, *PET Clinics*, c. 13, sy 3. W.B. Saunders, ss. 339-354, Tem. 01, 2018. doi: 10.1016/j.cpet.2018.02.006.
- [45] W. Tsuji ve J. A. Plock, “Breast Cancer Metastasis”, içinde *Introduction to Cancer Metastasis*, Elsevier, 2017, ss. 13-31. doi: 10.1016/B978-0-12-804003-4.00002-5.
- [46] O. K. Weinberg, D. C. Marquez-Garban, ve R. J. Pietras, “New approaches to reverse resistance to hormonal therapy in human breast cancer”, *Drug Resistance Updates*, c. 8, sy 4, ss. 219-233, 2005, doi: 10.1016/j.drug.2005.06.002.
- [47] C. J. Curtaz, L. Kiesel, P. Meybohm, A. Wöckel, ve M. Burek, “Anti-Hormonal Therapy in Breast Cancer and Its Effect on the Blood-Brain Barrier”, *Cancers*, c. 14, sy 20. MDPI, Eki. 01, 2022. doi: 10.3390/cancers14205132.

- [48] J. Hays *vd.*, “Effects of Estrogen plus Progestin on Health-Related Quality of Life”, 2003. [Çevrimiçi]. Available: www.nejm.org
- [49] S. Y. Zhu ve K. da Yu, “Breast Cancer Vaccines: Disappointing or Promising?”, *Frontiers in Immunology*, c. 13. Frontiers Media S.A., Oca. 28, 2022. doi: 10.3389/fimmu.2022.828386.
- [50] A. N. Panche, A. D. Diwan, ve S. R. Chandra, “Flavonoids: An overview”, *Journal of Nutritional Science*, c. 5. Cambridge University Press, Oca. 08, 2016. doi: 10.1017/jns.2016.41.
- [51] R. Saraei *vd.*, “Leukemia therapy by flavonoids: Future and involved mechanisms”, *Journal of Cellular Physiology*, c. 234, sy 6. Wiley-Liss Inc., ss. 8203-8220, Haz. 01, 2019. doi: 10.1002/jcp.27628.
- [52] H. Khan *vd.*, “Anti-cancer effects of polyphenols via targeting p53 signaling pathway: updates and future directions”, *Biotechnology Advances*, c. 38. Elsevier Inc., Oca. 01, 2020. doi: 10.1016/j.biotechadv.2019.04.007.
- [53] L. de Martino, G. D’Arena, R. Filosa, A. Peduto, R. Zeppa, ve V. de Feo, “Natural Compounds in Anti-Leukaemic Therapy: A Review”, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, c. 11, sy 6, ss. 492-502, May. 2011, doi: 10.2174/138955711795843284.
- [54] A. Kahraman, M. Serteser, ve T. Köken, “Flavonoidler”, *The Medical Journal of Kocatepe*, ss. 1-8, 2002, Erişim: Ara. 25, 2022. [Çevrimiçi]. Available: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/161614>
- [55] Y. S. Ku *vd.*, “Understanding the composition, biosynthesis, accumulation and transport of flavonoids in crops for the promotion of crops as healthy sources of flavonoids for human consumption”, *Nutrients*, c. 12, sy 6. MDPI AG, ss. 1-23, Haz. 01, 2020. doi: 10.3390/nu12061717.
- [56] H. Guven, A. Arici, ve O. Simsek, “Flavonoids in Our Foods: A Short Review”, *Journal of Basic and Clinical Health Sciences*, 2019, doi: 10.30621/jbachs.2019.555.

- [57] L. Křížová, K. Dadáková, J. Kašparovská, ve T. Kašparovský, “Isoflavones”, *Molecules*, c. 24, sy 6. MDPI AG, 2019. doi: 10.3390/molecules24061076.
- [58] O. Deveoğlu ve R. Karadağ, “Doğal Boya Kaynağı – Flavonoidler Üzerine Derleme”, *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, Eyl. 2019, doi: 10.7240/jeps.476514.
- [59] S. Andres, U. Hansen, B. Niemann, R. Palavinskas, ve A. Lampen, “Determination of the isoflavone composition and estrogenic activity of commercial dietary supplements based on soy or red clover”, *Food Funct*, c. 6, sy 6, ss. 2017-2025, Haz. 2015, doi: 10.1039/c5fo00308c.
- [60] A. Cassidy, S. Bingham, ve K. Dr Setchell, “Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women¹³”, 1994. [Çevrimiçi]. Available: <https://academic.oup.com/ajcn/article-abstract/60/3/333/4731888>
- [61] N. Shen, T. Wang, Q. Gan, S. Liu, L. Wang, ve B. Jin, “Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity”, *Food Chemistry*, c. 383. Elsevier Ltd, Tem. 30, 2022. doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132531.
- [62] Q. Chen, D. Wang, C. Tan, Y. Hu, B. Sundararajan, ve Z. Zhou, “Profiling of flavonoid and antioxidant activity of fruit tissues from 27 Chinese local citrus cultivars”, *Plants*, c. 9, sy 2, Şub. 2020, doi: 10.3390/plants9020196.
- [63] M. K. Khan, Zill-E-Huma, ve O. Dangles, “A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols”, *Journal of Food Composition and Analysis*, c. 33, sy 1. ss. 85-104, Şub. 2014. doi: 10.1016/j.jfca.2013.11.004.
- [64] R. Ginwala, R. Bhavsar, D. G. I. Chigbu, P. Jain, ve Z. K. Khan, “Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin”, *Antioxidants*, c. 8, sy 2. MDPI, 2019. doi: 10.3390/antiox8020035.

- [65] Y. Duan *vd.*, “Genotypic variation of flavonols and antioxidant capacity in broccoli”, *Food Chem*, c. 338, Şub. 2021, doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127997.
- [66] A. Y. Chen ve Y. C. Chen, “A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention”, *Food Chemistry*, c. 138, sy 4. ss. 2099-2107, Haz. 15, 2013. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.139.
- [67] C. Cui, S. Enosawa, H. Matsunari, H. Nagashima, ve A. Umezawa, “Natural flavonol, myricetin, enhances the function and survival of cryopreserved hepatocytes in vitro and in vivo”, *Int J Mol Sci*, c. 20, sy 24, Ara. 2019, doi: 10.3390/ijms20246123.
- [68] L. Cruz, N. Basilio, N. Mateus, V. de Freitas, ve F. Pina, “Natural and Synthetic Flavylum-Based Dyes: The Chemistry behind the Color”, *Chemical Reviews*, c. 122, sy 1. American Chemical Society, ss. 1416-1481, Oca. 12, 2022. doi: 10.1021/acs.chemrev.1c00399.
- [69] K. H. Prabhu ve A. S. Bhute, “Plant based dyes and mordant: A Review Plant based natural dyes and mordants: A Review”, 2012. [Çevrimiçi]. Available: <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>
- [70] X. Luo *vd.*, “Acylation of Anthocyanins and Their Applications in the Food Industry: Mechanisms and Recent Research Advances”, *Foods*, c. 11, sy 14. MDPI, Tem. 01, 2022. doi: 10.3390/foods11142166.
- [71] B. Salehi *vd.*, “Pharmacological Properties of Chalcones: A Review of Preclinical Including Molecular Mechanisms and Clinical Evidence”, *Frontiers in Pharmacology*, c. 11. Frontiers Media S.A., Oca. 18, 2021. doi: 10.3389/fphar.2020.592654.
- [72] Y. Ouyang, J. Li, X. Chen, X. Fu, S. Sun, ve Q. Wu, “Chalcone derivatives: Role in anticancer therapy”, *Biomolecules*, c. 11, sy 6. MDPI AG, Haz. 01, 2021. doi: 10.3390/biom11060894.
- [73] H. Slika *vd.*, “Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms”, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, c. 146.

Elsevier Masson s.r.l., Şub. 01, 2022. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112442.

- [74] J. Liggins, L. J. C. Bluck, S. Runswick, C. Atkinson, W. A. Coward, ve S. A. Bingham, "Daidzein and genistein content of fruits and nuts", 2000. Erişim: Ara. 25, 2022. [Çevrimiçi]. Available: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0955286300000851?token=6ACFF7566BD63608418CB95D6D6E4F983A0E5A56C452A6819D70DF3F6EECADB1CD77ACA8884FCEEF3108E500C8796826&originRegion=eu-west-1&originCreation=20221225184933>
- [75] M. Zagórska - dziok, P. Kleczkowska, E. Olędzka, R. Figat, ve M. Sobczak, "Poly(Chitosan - ester - ether - urethane) hydrogels as highly controlled genistein release systems", *Int J Mol Sci*, c. 22, sy 7, Nis. 2021, doi: 10.3390/ijms22073339.
- [76] H. S. Tuli *vd.*, "Molecular mechanisms of action of genistein in cancer: Recent advances", *Frontiers in Pharmacology*, c. 10. Frontiers Media S.A., 2019. doi: 10.3389/fphar.2019.01336.
- [77] X. Liu *vd.*, "Genistein enhances the radiosensitivity of breast cancer cells via G2/M cell cycle arrest and apoptosis", *Molecules*, c. 18, sy 11, ss. 13200-13217, Kas. 2013, doi: 10.3390/molecules181113200.
- [78] K. Polkowski *vd.*, "Cytostatic and cytotoxic activity of synthetic genistein glycosides against human cancer cell lines", *Cancer Lett*, c. 203, sy 1, ss. 59-69, Oca. 2004, doi: 10.1016/j.canlet.2003.08.023.
- [79] Y. Xiao *vd.*, "Synthesis, Characterization, and Evaluation of Genistein-Loaded Zein/Carboxymethyl Chitosan Nanoparticles with Improved Water Dispersibility, Enhanced Antioxidant Activity, and Controlled Release Property", *Foods*, c. 9, sy 11, Kas. 2020, doi: 10.3390/foods9111604.
- [80] E. Garbiec, J. Cielecka-Piontek, M. Kowalówka, M. Hołubiec, ve P. Zalewski, "Genistein—Opportunities Related to an Interesting

- Molecule of Natural Origin”, *Molecules*, c. 27, sy 3. MDPI, Şub. 01, 2022. doi: 10.3390/molecules27030815.
- [81] X. O. Shu *vd.*, “Soy Food Intake and Breast Cancer Survival”, *JAMA*, c. 302, sy 22, s. 2437, Ara. 2009, doi: 10.1001/jama.2009.1783.
- [82] J. Sharifi-Rad *vd.*, “Genistein: An Integrative Overview of Its Mode of Action, Pharmacological Properties, and Health Benefits”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, c. 2021. Hindawi Limited, 2021. doi: 10.1155/2021/3268136.
- [83] R. A. Dixon ve D. Ferreira, “Molecules of Interest Genistein”, 2002. [Çevrimiçi]. Available: www.elsevier.com/locate/phytochem
- [84] M. Messina ve L. Hilakivi-Clarke, “Early intake appears to be the key to the proposed protective effects of soy intake against breast cancer.”, *Nutr Cancer*, c. 61, sy 6, ss. 792-798, 2009, doi: 10.1080/01635580903285015.
- [85] M. J. Messina ve C. E. Wood, “Soy isoflavones, estrogen therapy, and breast cancer risk: Analysis and commentary”, *Nutrition Journal*, c. 7, sy 1. 2008. doi: 10.1186/1475-2891-7-17.
- [86] N. İnanç ve Ş. Tuna, “Fitoöstrojenler ve Sağlıkta Etkileri”, Kayseri, 2005.
- [87] K. D. R. Setchell, “Soy Isoflavones—Benefits and Risks from Nature’s Selective Estrogen Receptor Modulators (SERMs)”, *J Am Coll Nutr*, c. 20, ss. 354S-362S, Eki. 2001, doi: 10.1080/07315724.2001.10719168.
- [88] V. K. Chaturvedi, A. Singh, V. K. Singh, ve M. P. Singh, “Cancer Nanotechnology: A New Revolution for Cancer Diagnosis and Therapy”, *Curr Drug Metab*, c. 20, sy 6, ss. 416-429, Eyl. 2018, doi: 10.2174/1389200219666180918111528.
- [89] Z. Yang, Y. Ma, H. Zhao, Y. Yuan, ve B. Y. S. Kim, “Nanotechnology platforms for cancer immunotherapy”, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, c. 12, sy 2. Wiley-Blackwell, Mar. 01, 2020. doi: 10.1002/wnan.1590.

- [90] S. K. Hari, A. Gauba, N. Shrivastava, R. M. Tripathi, S. K. Jain, ve A. K. Pandey, “Polymeric micelles and cancer therapy: an ingenious multimodal tumor-targeted drug delivery system”, *Drug Delivery and Translational Research*. Springer, Oca. 01, 2022. doi: 10.1007/s13346-022-01197-4.
- [91] T. C. Yih ve M. Al-Fandi, “Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems”, *Journal of Cellular Biochemistry*, c. 97, sy 6. ss. 1184-1190, Nis. 15, 2006. doi: 10.1002/jcb.20796.
- [92] G. A. Hughes, “Nanostructure-mediated drug delivery”, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, c. 1, sy 1. ss. 22-30, Mar. 2005. doi: 10.1016/j.nano.2004.11.009.
- [93] T. Matoba, J. ichiro Koga, K. Nakano, K. Egashira, ve H. Tsutsui, “Nanoparticle-mediated drug delivery system for atherosclerotic cardiovascular disease”, *Journal of Cardiology*, c. 70, sy 3. Japanese College of Cardiology (Nippon-Sinzobyō-Gakkai), ss. 206-211, Eyl. 01, 2017. doi: 10.1016/j.jjcc.2017.03.005.
- [94] S. Movassaghian, O. M. Merkel, ve V. P. Torchilin, “Applications of polymer micelles for imaging and drug delivery”, *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, c. 7, sy 5, ss. 691-707, Eyl. 2015, doi: 10.1002/wnan.1332.
- [95] T. M. Allen, W. W. K. Cheng, J. I. Hare, ve K. M. Laginha, “Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Lipidic Nano-Particles in Cancer”, *Anticancer Agents Med Chem*, c. 6, sy 6, ss. 513-523, Kas. 2006, doi: 10.2174/187152006778699121.
- [96] Z. Hussain, J. Ali Khan, S. Murtaza, ve A. Professor, “Nanotechnology: An Emerging Therapeutic Option for Breast Cancer”, 2018. [Çevrimiçi]. Available: www.begellhouse.com
- [97] T. O. B. Olusanya, R. R. H. Ahmad, D. M. Ibegbu, J. R. Smith, ve A. A. Elkordy, “Liposomal drug delivery systems and anticancer drugs”,

- Molecules*, c. 23, sy 4. MDPI AG, 2018. doi: 10.3390/molecules23040907.
- [98] J. Singh, K. Jain, N. K. Mehra, ve N. K. Jain, “Dendrimers in anticancer drug delivery: mechanism of interaction of drug and dendrimers”, *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology*, c. 44, sy 7. Taylor and Francis Ltd., ss. 1626-1634, Eki. 02, 2016. doi: 10.3109/21691401.2015.1129625.
- [99] R. I. Castro, O. Forero-Doria, ve L. Guzmán, “Perspectives of dendrimer-based nanoparticles in cancer therapy”, *An Acad Bras Cienc*, c. 90, sy 2, ss. 2331-2346, 2018, doi: 10.1590/0001-3765201820170387.
- [100] Neha Desai, M. Momin, T. Khan, S. Gharat, R. S. Ningthoujam, ve A. Omri, “Metallic nanoparticles as drug delivery system for the treatment of cancer”, *Expert Opinion on Drug Delivery*, c. 18, sy 9. Taylor and Francis Ltd., ss. 1261-1290, 2021. doi: 10.1080/17425247.2021.1912008.
- [101] Y. Zhang, M. Li, X. Gao, Y. Chen, ve T. Liu, “Nanotechnology in cancer diagnosis: Progress, challenges and opportunities”, *Journal of Hematology and Oncology*, c. 12, sy 1. BioMed Central Ltd., Ara. 17, 2019. doi: 10.1186/s13045-019-0833-3.
- [102] M. Asadujjaman, K. H. Cho, D. J. Jang, J. E. Kim, ve J. P. Jee, “Nanotechnology in the arena of cancer immunotherapy”, *Archives of Pharmacal Research*, c. 43, sy 1. Pharmaceutical Society of Korea, ss. 58-79, Oca. 01, 2020. doi: 10.1007/s12272-020-01207-4.
- [103] A. Zielinska *vd.*, “Polymeric Nanoparticles: Production, Characterization, Toxicology and Ecotoxicology”, *Molecules*, c. 25, sy 16. MDPI AG, Ağu. 01, 2020. doi: 10.3390/molecules25163731.
- [104] S. Derman, K. Kızılbey, ve Z. M. Akdeste, “Polymeric nanoparticles”, *Journal of Engineering and Natural Sciences*, ss. 107-120, 2013.
- [105] U. Kandekar, “Nanocarriers For Breast Cancer: Advanced Perspective Review Article”, 2021.

- [106] M. N. V. R. Kumar, "Nano and Microparticles as Controlled Drug Delivery Devices", 2000. Erişim: Ara. 26, 2022. [Çevrimiçi]. Available: [https://sites.ualberta.ca/~csps/JPPS3\(2\)/M.Kumar/Particles-Kumar.pdf](https://sites.ualberta.ca/~csps/JPPS3(2)/M.Kumar/Particles-Kumar.pdf)
- [107] A. Gagliardi *vd.*, "Biodegradable Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery to Solid Tumors", *Frontiers in Pharmacology*, c. 12. Frontiers Media S.A., Şub. 03, 2021. doi: 10.3389/fphar.2021.601626.
- [108] H. Pang, X. Huang, Z. P. Xu, C. Chen, ve F. Y. Han, "Progress in oral insulin delivery by PLGA nanoparticles for the management of diabetes", *Drug Discovery Today*, c. 28, sy 1. Elsevier Ltd, Oca. 01, 2023. doi: 10.1016/j.drudis.2022.103393.
- [109] E. Lagreca, V. Onesto, C. di Natale, S. la Manna, P. A. Netti, ve R. Vecchione, "Recent advances in the formulation of PLGA microparticles for controlled drug delivery", *Progress in Biomaterials*, c. 9, sy 4. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, ss. 153-174, Ara. 01, 2020. doi: 10.1007/s40204-020-00139-y.
- [110] C. Martins, F. Sousa, F. Araújo, ve B. Sarmiento, "Functionalizing PLGA and PLGA Derivatives for Drug Delivery and Tissue Regeneration Applications", *Advanced Healthcare Materials*, c. 7, sy 1. Wiley-VCH Verlag, Oca. 10, 2018. doi: 10.1002/adhm.201701035.
- [111] V. Jain *vd.*, "A review of nanotechnology-based approaches for breast cancer and triple-negative breast cancer", *Journal of Controlled Release*, c. 326. Elsevier B.V., ss. 628-647, Eki. 10, 2020. doi: 10.1016/j.jconrel.2020.07.003.
- [112] "MCF7 (HTB-22™)", <https://www.atcc.org/products/htb-22>, Ara. 22, 2022.
- [113] A. Suarez-Arnedo, F. T. Figueroa, C. Clavijo, P. Arbeláez, J. C. Cruz, ve C. Muñoz-Camargo, "An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays", *PLoS One*, c. 15, sy 7 July, Tem. 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0232565.

- [114] A. Grada, M. Otero-Vinas, F. Prieto-Castrillo, Z. Obagi, ve V. Falanga, “Research Techniques Made Simple: Analysis of Collective Cell Migration Using the Wound Healing Assay”, *Journal of Investigative Dermatology*, c. 137, sy 2. Elsevier B.V., ss. e11-e16, Şub. 01, 2017. doi: 10.1016/j.jid.2016.11.020.
- [115] İ. Meteoglu, “Temozomid ve Genistein Yüklü Polimerik Nanopartiküllerin Anti-proliferatif ve Apoptotik Etkilerinin İnsan Glioblastoma Hücrelerinde Karşılaştırılmalı Analizi”, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2021.
- [116] P. Thangavel, A. Puga-Olguín, J. F. Rodríguez-Landa, ve R. C. Zepeda, “Genistein as potential therapeutic candidate for menopausal symptoms and other related diseases”, *Molecules*, c. 24, sy 21. MDPI AG, 2019. doi: 10.3390/molecules24213892.
- [117] R. Cohen, Y. Orlova, M. Kovalev, Y. Ungar, ve E. Shimoni, “Structural and functional properties of amylose complexes with genistein”, *J Agric Food Chem*, c. 56, sy 11, ss. 4212-4218, Haz. 2008, doi: 10.1021/jf800255c.
- [118] B. Wu *vd.*, “Genistein-loaded nanoparticles of star-shaped diblock copolymer mannitol-core PLGA-TPGS for the treatment of liver cancer”, *Materials Science and Engineering C*, c. 59, ss. 792-800, Şub. 2016, doi: 10.1016/j.msec.2015.10.087.
- [119] W. Huang, C. P. Tsui, C. Y. Tang, ve L. Gu, “Effects of Compositional Tailoring on Drug Delivery Behaviours of Silica Xerogel/Polymer Core-shell Composite Nanoparticles”, *Sci Rep*, c. 8, sy 1, Ara. 2018, doi: 10.1038/s41598-018-31070-9.
- [120] S. K. Marshall, P. Angsantikul, Z. Pang, N. Nasongkla, R. S. D. Hussien, ve S. D. Thamphiwatana, “Biomimetic Targeted Theranostic Nanoparticles for Breast Cancer Treatment”, *Molecules*, c. 27, sy 19, Eki. 2022, doi: 10.3390/molecules27196473.

- [121] K. N. Clayton, J. W. Salameh, S. T. Wereley, ve T. L. Kinzer-Ursem, “Physical characterization of nanoparticle size and surface modification using particle scattering diffusometry”, *Biomicrofluidics*, c. 10, sy 5, Eyl. 2016, doi: 10.1063/1.4962992.
- [122] M. Rocha, N. Chaves, ve S. Bao, “Nanobiotechnology for Breast Cancer Treatment”, içinde *Breast Cancer - From Biology to Medicine*, InTech, 2017. doi: 10.5772/66989.
- [123] I. Meteoglu ve A. Erdemir, “Genistein and Temozolomide-Loaded Polymeric Nanoparticles: A Synergistic Approach For Improved Anti-Tumor Efficacy Against Glioblastoma”, *Process Biochemistry*, c. 110, ss. 9-18, Kas. 2021, doi: 10.1016/j.procbio.2021.07.015.
- [124] K. Sacko, K. Thangavel, ve S. A. Shoyele, “Codelivery of genistein and miRNA-29b to a549 cells using aptamer-hybrid nanoparticle bioconjugates”, *Nanomaterials*, c. 9, sy 7, Tem. 2019, doi: 10.3390/nano9071052.
- [125] C. Gong *vd.*, “Regulating the immunosuppressive tumor microenvironment to enhance breast cancer immunotherapy using pH-responsive hybrid membrane-coated nanoparticles”, *J Nanobiotechnology*, c. 19, sy 1, Ara. 2021, doi: 10.1186/s12951-021-00805-8.
- [126] C. Wang ve M. S. Kurzer, “Phytoestrogen concentration determines effects on DNA synthesis in human breast cancer cells”, *Nutr Cancer*, c. 28, sy 3, ss. 236-247, 1997, doi: 10.1080/01635589709514582.
- [127] H. Nakagawa *vd.*, “Effects of genistein and synergistic action in combination with eicosapentaenoic acid on the growth of breast cancer cell lines”.
- [128] J. Arribas, J. J. Bech-Serra, ve B. Santiago-Josefat, “ADAMs, cell migration and cancer”, *Cancer and Metastasis Reviews*, c. 25, sy 1. ss. 57-68, Mar. 2006. doi: 10.1007/s10555-006-7889-6.

[129] H. Yamaguchi, J. Wyckoff, ve J. Condeelis, “Cell migration in tumors”,
Current Opinion in Cell Biology, c. 17, sy 5 SPEC. ISS. Elsevier Ltd, ss.
559-564, 2005. doi: 10.1016/j.ceb.2005.08.002.

[130] Y. A. Kariri *vd.*, “Molecular Complexity of Lymphovascular Invasion:
The Role of Cell Migration in Breast Cancer as a Prototype”,
Pathobiology, c. 87, sy 4. S. Karger AG, ss. 218-231, Eyl. 01, 2020. doi:
10.1159/000508337.



TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Bakar, G. M., Tatar, C., ve Erdemir, A., “Synthesis and in vitro Evaluation of Genistein-Loaded Nanoparticles for Breast Cancer Treatment”, 2. International Dicle Scientific Studies and Innovation Congress, Diyarbakır, Türkiye, sy 180, 2022.

