

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**KUDRET NARI (*Momordica charantia*) ÇEKİRDEK VE
MEYVE EKSTRESİNİN ÖSTROJENE DUYARLI
ENDOMETRİUM KANSERİ HÜCRELERİNDE
GENOMİK OLMAYAN ÖSTROJEN RESEPTÖR
SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNDEN ANTİPROLİFERATİF
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan
Kardelen AZGIN**

**Danışman
Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU**

Yüksek Lisans Tezi

**Ağustos 2025
KAYSERİ**

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ECZACILIK BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KUDRET NARI (*Momordica charantia*) ÇEKİRDEK VE
MEYVE EKSTRESİNİN ÖSTROJENE DUYARLI
ENDOMETRİUM KANSERİ HÜCRELERİNDE
GENOMİK OLMAYAN ÖSTROJEN RESEPTÖR
SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNDEN ANTİPROLİFERATİF
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

**Hazırlayan
Kardelen AZGIN**

**Danışman
Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU**

**Ağustos 2025
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, tüm bilgilerin akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda akademik ve etik kuralların gerektirdiği gibi tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve kaynaklar listesinde gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Kardelen AZGIN

İmza:

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Kudret Narı (*Momordica charantia*) Çekirdek ve Meyve Ekstresinin Östrojene Duyarlı Endometrium Kanseri Hücrelerinde Genomik Olmayan Östrojen Reseptör Sinyal Yolağı Üzerinden Antiproliferatif Etkisinin Değerlendirilmesi” adlı **Yüksek Lisans Tezi**, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Kardelen AZGIN

Danışman

Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU

Anabilim Dalı Başkanı

Prof. Dr. Behzat ÇİMEN

Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU danışmanlığında **Kardelen AZGIN** tarafından hazırlanan “**Kudret Narı (*Momordica charantia*) Çekirdek ve Meyve Ekstresinin Östrojene Duyarlı Endometrium Kanseri Hücrelerinde Genomik Olmayan Östrojen Reseptör Sinyal Yolağı Üzerinden Antiproliferatif Etkisinin Değerlendirilmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

...../...../20.....

JÜRİ

Danışman : Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Mehmet Akif BAKTİR.....

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Hatice BEKÇİ

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../20.....

Prof. Dr. Aydın ALAN

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgisini ve desteğini asla esirgemeyen, deneyimlerini aktararak bana ilham olan, yol gösteren ve bilimin ışığında beni yetiştiren tez danışmanım kıymetli hocam Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU'na,

Tezime olan katkılarından ve desteğinden dolayı değerli hocam Doç. Dr. Leyla PASHAYEVA'ya,

Gece ve gündüz demeden her anımda yanımda olan, düştüğümde ayağa kaldıran, sonsuz sevgileriyle bana güç ve moral veren, maddi ve manevi olarak her zaman destek olan canım annem ve babama,

Başım sıkıştığında dertlerimi sıklımadan dinleyip motivasyonumu yükselten, bana yol gösteren arkadaşlarıma tüm kalbimle teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında desteklenmiştir.

Kardelen AZGIN

Ağustos 2025, KAYSERİ

**KUDRET NARI (*Momordica charantia*) ÇEKİRDEK VE MEYVE
EKSTRESİNİN ÖSTROJENE DUYARLI ENDOMETRİUM KANSERİ
HÜCRELERİNDE GENOMİK OLMAYAN ÖSTROJEN RESEPTÖR
SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNDEN ANTİPROLİFERATİF ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Kardelen AZGIN

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Eczacılık Biyokimya Anabilim Dalı,
Yüksek Lisans Tezi, Ağustos 2025
Danışman: Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU**

ÖZET

Fitofarmasötik içeriği ve anti-kanser nitelikleri nedeniyle, *Momordica charantia* son yıllarda tamamlayıcı bir ilaç olarak büyük ilgi görmüştür. Bu araştırmanın bulguları, *Momordica charantia* çekirdek (McÇE) ve meyve (McME) özütlerinin hem genomik olmayan östrojen reseptörü sinyal yolunu hem de RL95-2 hücrelerinin göçünü ve çoğalmasını engellediğini göstermektedir. McÇE ve McME sırasıyla 134,8 µg/mL ve 165,9 µg/mL IC₅₀ değeri ile hücre büyümesini engellemiştir. Az miktarda 17-β-Östradiol'ün (1nM) kısa süreli (15 dakika) uygulanması, genomik olmayan sinyal kinazları P38MAPK, ERK1/2 ve AKT'nin yanı sıra kaspaz-9'un aktivasyonunu artırmıştır. McÇE (50 ve 100 µg/mL) ve McME (75 ve 150 µg/mL) ile tedavi P38MAPK, ERK1/2 ve AKT aktivasyonunu ve kaspaz-9 fosforilasyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Ayrıca, McÇE ve McME ile muamele, hücre göçü deneyinde çiziliğin göreceli olarak kapanmasında önemli bir azalmaya neden olmuştur. Araştırmamıza göre, Kudret narı tohumları ve meyveleri, genomik olmayan östrojen reseptörü sinyal yolu kinazlarını inhibe ederek endometrial karsinom hücrelerini öldürme yeteneğine sahip biyoaktif bir bileşen veya bileşikler içermektedir. Bu da meyve ve tohumların potansiyel bir antikanser ilaç kaynağı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Endometrium Kanseri; Genomik Olmayan Östrojen Sinyal Yolağı; Kaspaz-9; *Momordica charantia*; 17-β-Östradiol.

ANTIPROLIFERATIVE EFFECT OF BITTER MELON (*Momordica charantia*) SEED AND FRUIT EXTRACT THROUGH THE NON-GENOMIC ESTROGEN RECEPTOR SIGNAL PATHWAY ON ESTROGEN-SENSITIVE ENDOMETRIUM CANCER CELLS

Kardelen AZGIN

**Erciyes University, Institute of Healthy Sciences
Department of Pharmacy Biochemistry,
Master's Thesis, August 2025
Supervisor: Prof. Dr. Ahmet CUMAOĞLU**

ABSTRACT

Due to its phytopharmaceutical content and anti-cancer qualities, *Momordica charantia* has attracted a lot of interest as a supplementary medicine in recent years. The findings of this investigation demonstrate that *Momordica charantia* seed (McSE) and fruit (McFE) extracts block both the non-genomic estrogen receptor signaling pathway and the migration and proliferation of RL95-2 cells. McSE and McFE blocked cell growth with an IC₅₀ value of 134,8 µg/mL and 165,9 µg/mL respectively. A short-term (15 min) administration of a small amount of 17-β-estradiol (1 nM) boosted the activation of the non-genomic signaling kinases P38MAPK, ERK1/2, and AKT, as well as caspase-9. Treatment with McSE (50 and 100 µg/mL) and McFE (75 and 150 µg/mL) significantly reduced the activation of P38MAPK, ERK1/2 and AKT and the phosphorylation of caspase-9. Further, treatment with McSE and McFE caused a significant reduction in relative closure of scratch in cell migration assay. According to our research, *Momordica charantia* seeds and fruits contain a bioactive component or compounds that have the ability to kill endometrial carcinoma cells by inhibiting non-genomic estrogen receptor signaling pathway kinases. This suggests that the fruit and seeds could be a potential source of anticancer medications.

Keywords: Endometrium Cancer; Non-Genomic Estrogen Signaling Pathway; Caspase-9; *Momordica charantia*; 17-β-Estradiol.

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	i
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Endometrium Kanseri	7
2.1.2. Endometrium Kanserinin Sınıflandırılması ve Histopatolojisi	8
2.1.3. Endometrium Kanserinde Risk Faktörleri	9
2.1.3.1. Yaş	9
2.1.3.2. Irk.....	10
2.1.3.3. Metabolik Sendrom	10
2.1.3.4. Karşılıksız Östrojen Maruziyeti.....	10
2.2. Östrojen Reseptörü ve Östrojen Sinyal Yolakları	12
2.2.1. Östrojen Reseptörleri.....	12
2.2.1.1. Östrojen Reseptörlerinin Yapısı	13
2.2.2. Genomik Östrojen Reseptör Sinyal Yolağı.....	14
2.2.3. Genomik Olmayan (Non-genomik) Östrojen Reseptör Sinyal Yolağı.....	16
2.3. Kanser Tedavisinde Hedef: Apoptozis.....	18
2.4. Kanser Önleme ve Tedavisi İçin Nutrasötik Bir Yaklaşım: <i>Momordica charantia</i>	22
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. <i>Momordica charantia</i> Çekirdek ve Meyve Materyali.....	24
3.2. Hücre Kültürü.....	24
3.3. MTT Deneyi	24

3.4. Hücre Migrasyon Testi (Wound Healing Assay)	25
3.5. Western Blot Analizi	26
3.5.1. Hücrelerden Protein İzolasyonu	26
3.5.2. BCA Yöntemi İle Total Protein Tayini	27
3.5.3. Poliakrilamid Jel Elektrophorezi.....	27
3.5.4. Proteinlerin Membrana Transferi	28
3.5.5. Bloklama	28
3.5.6. Primer Antikor İle İnkübasyon.....	28
3.5.7. Sekonder Antikor İle İnkübasyon	28
3.5.8. Görüntüleme.....	28
3.6. İstatistiksel Veri Analizi.....	29
4. BULGULAR.....	30
4.1. <i>Momordica charantia</i> Meyve ve Çekirdek Ekstresinin RL95-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi.	30
4.2. 17- β -östradiol'ün Uygulama Konsantrasyonu	31
4.3. 17- β -östradiol İle Uyarılan Genomik Olmayan Östrojen Reseptör Sinyal İleti Kinazları Üzerine McME ve McÇE'nin Etkileri.....	32
4.4. RL95-2 Hücre Migrasyonu Üzerine 17- β -östradiol ve <i>Momordica charantia</i> Çekirdek ve Meyve Ekstresinin Etkisi	36
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	41
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR VE SİMGELER

ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
AF-1:	Aktivasyon fonksiyonu-1
AF-2:	Aktivasyon fonksiyonu-2
AKT:	Protein kinaz B
AP-1:	Aktivatör protein-1
AR:	Androjen reseptör
Ark:	Arkadaşları
BAK:	BCL-2 homolog antagonist öldürücü
BAX:	BCL-2 ilişkili X proteini
DBD:	DNA-bağlama domaini
DHT:	Dihidrotestosteron
DMEM:	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO:	Dimetil sülfoksit
E2:	Östradiol, 17- β -östradiol
EGFR:	Epidermal büyüme faktörü reseptörü
ER:	Östrojen reseptörü
ERE:	Östrojen yanıt elemanı
ERK:	Hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz
ERα:	Östrojen reseptör α
ERβ:	Östrojen reseptör β
FBS:	Fetal bovine serum
FIGO:	International Federation of Gynecology and Obstetrics
GPCR:	G-proteini bağlı reseptör
GPGR/GPER1:	G-Protein bağlı östrojen reseptörü
GPR30:	G-Protein bağlı reseptör-30
Hsp:	Isı şoku proteinleri
IC₅₀:	Hücre çoğalmasını %50 oranında inhibe eden konsantrasyon
IGF-1R:	İnsülin ile ilişkili büyüme faktörü-1 reseptörü
IP₃:	İnositol trifosfat
LBD:	Ligand bağlama domaini
MAPK:	Mitojenle aktive olan protein kinaz

McÇE:	<i>Momordica charantia</i> çekirdek ekstresi
McME:	<i>Momordica charantia</i> meyve ekstresi
MCP30:	<i>Momordica charantia</i> proteini
MSS:	Merkezi sinir sistemi
MTT:	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NO:	Nitrik oksit
NR:	Nükleer reseptör
NTD:	N terminal domaini
PBS:	Fosfat tamponlu salin
PI3K:	Fosfoinozotid 3-kinaz
PKA:	protein kinaz A
PKC:	protein kinaz C
RIPA:	Radio Immunoprecipitation Assay
RL95-2:	İnsan endometrium kanseri hücreleri
ROS:	Reaktif oksijen türleri
SDS:	Sodyum dodesil sülfat
SDS-PAGE:	Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi
Ser:	Serin
Sp-1:	Uyarıcı protein-1
TF:	Transkripsiyon faktörü
Thr:	Treonin
Tyr:	Tirozin
XIAP:	X'e bağlı apoptoz protein inhibitörü

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Östrojen aracılı genomik ER sinyal yolu	15
Şekil 2.2.	Östrojen aracılı genomik ve non-genomik sinyal yolları	16
Şekil 2.3.	Genomik ve non-genomik sinyal yollarının karşılıklı konuşması.....	18
Şekil 2.4.	Kaspaz-9'un fosforile edildiği bölgeler.....	20
Şekil 2.5.	Kaspaz-9'un protein kinaz sinyal yollarıyla düzenlenmesi.....	21
Şekil 2.6.	<i>Momordica charantia</i> 'nın önlediği kanser türleri	23
Şekil 2.7.	<i>Momordica charantia</i> ile kanser önleme ve tedavisinin moleküler mekanizmaları	23
Şekil 4.1.	<i>Momordica charantia</i> meyve (McME) ve çekirdek (McÇE) ekstresinin RL95-2 hücre canlılığı üzerine etkisi	31
Şekil 4.2.	17- β -östradiol'ün değişen konsantrasyonlarda genomik olmayan östrojen reseptör sinyal yolu protein kinazları ve kaspaz-9'un fosforilasyonu üzerine etkisi	32
Şekil 4.3.	17- β -östradiol aracılı AKT aktivasyonu: <i>Momordica charantia</i> çekirdek ve meyve ekstresinin AKT aktivasyonunda düzenleyici etkisi.....	33
Şekil 4.4.	17- β -östradiol aracılı P38 aktivasyonu: <i>Momordica charantia</i> çekirdek ve meyve ekstresinin P38 aktivasyonunda düzenleyici etkisi.....	34
Şekil 4.5.	17- β -östradiol aracılı ERK1/2 aktivasyonu: <i>Momordica charantia</i> çekirdek ve meyve ekstresinin ERK1/2 aktivasyonunda düzenleyici etkisi	35
Şekil 4.6.	17- β -östradiol aracılı kaspaz-9 fosforilasyonu: <i>Momordica charantia</i> çekirdek ve meyve ekstresinin kaspaz-9 fosforilasyonunda düzenleyici etkisi	36
Şekil 4.7.	17- β -östradiol ve <i>Momordica charantia</i> çekirdek ve meyve ekstresinin RL95-2 hücre migrasyonu üzerine etkisi	36

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Endometrium kanseri en yaygın jinekolojik malignitelerden biridir ve dünya çapında en yaygın altıncı malign hastalıktır. Görülme sıklığı her geçen yıl artmakla birlikte başlangıç yaşı son yıllarda hızla düşmektedir (Sung ve ark., 2021; Urick ve Bell, 2019; Zhou ve ark., 2014). Gelişmekte olan ülkelerde (5.1/100.000 kadın) endometrium kanseri görülme sıklığı gelişmiş ülkelerdekinden (13.8/100.000 kadın) daha düşüktür. Bununla birlikte gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler göz önünde bulundurulduğunda (1.52/100.000 kadın) mortalite oranları arasında çok az bir fark vardır (Koskas ve ark., 2021; Sung ve ark., 2021; Zhou ve ark., 2014). Tüm bu verilere ek olarak, endometrium kanserinin görülme sıklığı birçok gelişmekte olan ülkede hızla artmaktadır (Saito ve ark., 2021). Patogeneze ve biyolojik davranışına bağlı olarak endometrium kanseri iki tipe ayrılabilir: Östrojen bağımlı (Tip 1) ve östrojen bağımlı olmayan (Tip 2) (Zhou ve ark., 2014). Tip 1 endometrial karsinomaların çoğunluğu iyi diferansiye olan endometrioid karsinomlardır ve birkaçı müsinöz adenokarsinomlardır (Engelsen ve ark., 2008). Tip 2 endometrial adenokarsinomlar ise seröz karsinom ve berrak hücreli karsinomu içerir (Koshiyama ve ark., 1998). Tip 2 endometrial karsinomaların çoğunluğu östrojen reseptörlerini ifade etmez ve hormondan bağımsız bir şekilde gelişebilir (Koshiyama ve ark., 1998). Tip 1 endometrial karsinomanın etiyolojisinde yaş, obezite, diyabet, hipertansiyon, polikistik over sendromu, anovulasyon, infertilite, gebelik olmaması, erken menarş yaşı, geç menapoz yaşı, overneoplazmları, eksojen östrojen kullanımı ve genetik faktörler yer almaktadır (Gullo ve ark., 2021; Musicco ve ark., 2018). Bununla birlikte patogenezin ana mekanizması östradiol (E2)'ün uzun süreli uyarıcı etkisi altında endometriumun atipik hiperplazisinin ardından karsinogenezin meydana gelmesidir (Tan ve ark., 2008). Diğer yandan; erken menarş yaşı, geç menapoz yaşı ve yumurtalık tümörlerinin tümü endometriumun E2 ile kümülatif

maruziyetini arttırarak endometrial karsinom riskini arttırır (Jongen ve ark., 2002). Ayrıca meme kanseri tedavisinde yaygın olarak kullanılan tamoksifen, östrojen reseptör antagonisti olarak hareket edebilir ve mastektomiden sonra uzun vadede endometrial hiperplazi, polip, kanser veya sarkoma neden olabilir (AlZaabi ve ark., 2021). Tip 2 endometrial karsinoma ile ilgili olarak, prekanseröz lezyonları etiyolojisi konusunda henüz bir fikir birliği yoktur ancak p53 mutasyonları ve HER-2'nin anormal amplifikasyonu şu anda bilinen ana nedenler arasındadır (Travaglino ve ark., 2020).

E2 bir hormon-reseptör kompleksi oluşturmak üzere östrojen reseptörüne spesifik olarak bağlanır ve böylece biyolojik işlevlerini yerine getirir (Barton ve ark., 2018). Tanımlanmış iki grup östrojen reseptörü vardır. Grup 1, çekirdekte bulunan ve belirli hedef genlerin transkripsiyonunu düzenleyerek işlevlerini yerine getiren klasik nükleer reseptörler (NR) östrojen reseptör α (ER α) ve Östrojen reseptör β (ER β)'yı içerir (Fuentes ve ark., 2019). Diğer grup membran östrojen reseptör ve G-Protein bağlı östrojen reseptör (GPER) ailesi de dahil olmak üzere membran reseptörlerinden oluşur ve bunlar esas olarak ikincil haberci sistemi aracılığıyla dolaylı bir transkripsiyonel düzenleyici işlevi görürler (Fuentes ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2018). Bu iki tip östrojen reseptör vücutta doku/hücreye özgü bir dağılıma sahiptir ve üreme, öğrenme, hafıza ve biliş gibi çeşitli işlemlerin düzenlenmesinde rol oynar (Fuentes ve ark., 2019; Prossnitz ve Barton, 2011). ER α 595 aminoasit içeriği ile altı farklı domainden (A, B, C, D, E, ve F) oluşan bir transkripsiyon faktörüdür (TF) (Rao ve ark., 2011). A domaini ve B domaini, E2 aktivasyonundan bağımsız olarak ligand bağımsız aktivasyon fonksiyonunu (AF-1) içerir (Arao ve Korach, 2019). Bununla birlikte A ve B işlevsel domainler E2-ER α bağlanma sürecine katılarak E2'ye yanıt veren genlerin transkripsiyonunu düzenleyebilir (Arao ve Korach, 2019). Genel olarak, AF-1'in birincil işlevi ortak düzenleyici proteinlerin işe alınmasıdır (Jia ve ark., 2015). DNA bağlanma alanı olarak da bilinen C domaini dört sistein aminoasidi içeren bir çift çinko parmak yapısı içerir (Bouricha ve ark., 2020). ER α homodimeri, DNA bağlanma domaini aracılığıyla hedef genlerin palindromik GGTCA-nnn-TGACC dizisine bağlanarak transkripsiyonlarını teşvik eder (Arao ve Korach, 2021). Ek olarak DNA bağlanma domaini ve DNA'nın bağlanması D domaini etkisi nedeniyle stabilize edilir (Arao ve Korach, 2019). D domain, ER α 'da

AF-1 ve ligand bağımlı aktivasyon fonksiyonu-2 (AF-2)'nin işlevini koordine ederek nükleer lokalizasyon sinyali ve ortak düzenleyici proteinlerin işe alınmasına katkıda bulunur (Tecalco-Cruz ve ark., 2017). Ayrıca D domaininin C domaini ile E domaini arasında bir menteşe görevi gördüğü gösterilmiştir (Tecalco-Cruz ve ark., 2017). E domaininin E2'ye bağlanma, reseptör dimerizasyonu ve ko-aktivatörlere veya ko-inhibitörlere bağlanma gibi çeşitli işlevleri vardır (Arao ve Korach, 2021). Ek olarak E domaini AF-2 içeren ligand bağlayıcı alanı oluşturur (Arao ve Korach, 2021). AF-2 farklı östrojen türleriyle karşılaştırıldığında, farklı konformasyonlar benimser ve hedef genlerin transkripsiyonu sırasında bağlanma için hangi ko-aktivatörlerin ve/veya ko-supresörlerin gerekli olduğunu belirler (Arao ve Korach, 2021). AF-1 ve AF-2 ER α 'nın transkripsiyonel aktivitesini en üst düzeye çıkarmak için birbirleri ile koordine olur (Arao ve Korach, 2019). F domaininin işlevi nispeten belirsizdir. Ancak F domaininin transkripsiyonel aktivasyon ve 4-hidroksitamoksifen gibi anti-östradiol ilaçlarının işleyişi için gerekli olabileceği literatürde bildirilmiştir (Arao ve Korach, 2021; Skafar ve Zhao, 2008).

ER β protein yapısı olarak ER α 'ya benzer ve ayrıca benzer domainleri (A, B, C, D, E ve F) içerir (Lara-Castillo, 2021). ER β ve ER α arasındaki majör fark AF-1'in içerisinde. ER β 'nin AF-1 aktivitesi nispeten düşükken AF-2 aktivitesi ER α 'nın AF-2 aktivitesine benzerdir. Bu da transkripsiyonel düzeyde çeşitli E2'ye yanıt veren genlerin üzerinde farklı etkilere sahip olduklarını ortaya koymaktadır (Božović ve ark., 2021; Zwart ve ark., 2010). Özellikle gen transkripsiyonu için AF-1 ve AF-2'nin her ikisinin de gerekli olduğunda ER β 'nin etkisi ER α 'ninkinden daha zayıftır ve yalnızca AF-2 gerekli olduğunda eşdeğerdirler (Božović ve ark., 2021). Bu reseptörlerin aktivasyonu nükleer translokasyonu ve gen ifadenmesini kontrol eden spesifik yanıt elemanlarına bağlanmayı içerir. E2'nin "genomik olmayan" etkilerinin aksine genlerin bu yolla modülasyonu "**genomik**" östradiol aktivitesi olarak adlandırılır. Genomik etkide östrojenlerin östrojen reseptörüne bağlanmasına ve nükleusa translokasyonunu gerektirir. Daha sonra reseptörlerin dimerizasyonu gereklidir ki bu da homodimerlerin veya heterodimerlerin (α - α ve β - β veya α - β) oluşumuyla sonuçlanabilir. Dimerizasyondan sonra östrojen reseptörü iki çinko parmak motifi aracılığıyla spesifik DNA östrojen yanıt elementlerine bağlanır (Feltz ve Roy, 2005; Świtalska ve Strzdała, 2007). Spesifik DNA östrojen yanıt

elementleri çeşitli genlerin promoter bölgelerinde bulunur. Östrojen bağlanması ko-aktivatör proteinlerin işe alınması gibi ligand bağlayıcı alandaki reseptör konformasyonunun diğer modifikasyonlarını indükleyebilir. Östrojen tarafından düzenlenen birçok gen spesifik DNA östrojen yanıt elementi içermezken bu genlerin transkripsiyonunun östrojen tarafından nasıl düzenlendiği tam olarak anlaşılamamıştır (Björnström ve Sjöberg, 2005).

ER α ve ER β 'nin her ikisinin de hücre membranında bulunduğuna dair fazlasıyla kanıt vardır. Bu iki membran reseptörü membranda homo (ER α -ER α veya ER β -ER β) veya heterodimer (ER α -ER β) şeklinde bulunabilir (Boonyaratanakornkit ve Edwards, 2007). Bugünkü bilgiler ışığında membran östrojen reseptörleri ile nükleer östrojen reseptörleri farklı değildir çünkü bu yapıların ağırlıkları, elektroforetik hareketleri ve E2'ye olan afiniteleri gerçekte aynıdır (Soltysik ve Czekaj, 2013). Son yıllarda membran östrojen reseptör α ve membran östrojen reseptör β 'ya ilave olarak birkaç proteinin de membran östrojen reseptör ailesine dahil edildiği bilinmektedir. Bu yeni proteinler içerisinde en çok incelenen protein G-Protein bağlı reseptör 30 (GPER veya GPR30)'dur. GPR30 sadece hızlı regülatör mekanizmada görev almayıp aynı zamanda kalsiyum mobilizasyonu veya kinaz aktivasyonu gibi ve aynı zamanda c-fos gibi genlerin transkripsiyonel aktivasyonunda önemli rollere sahiptir (Prossnitz ve Maggiolini, 2009). Membran ER α ve membran ER β dışında Toran-Allerand ve ark. (2002) tarafından tanımlanan bir başka membran östrojen reseptörü ER-X olarak adlandırılmıştır. Bu reseptör moleküler ağırlığındaki farklılık ile diğer membran reseptörlerinden ayrılmaktadır. 63 kDa olarak tanımlanan bu protein 67 kDa olan ER α , 60 kDa olan ER β ve 44 kDa olan GPR30'dan ayrılır (Almey ve ark., 2015). ER-X selektif östrojen reseptör agonistleri varlığında hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazın (ERK) stimülasyonuna neden olamaz. Ayrıca 17- α -östradiol'e olan afinitesi 17- β -östradiol (E2)'den daha fazladır (Soltysik ve Czekaj, 2013).

Östrojen aracılı sinyal yollarının hızlı modülasyonu (saniyeler veya dakikalar içinde) plazma membranında veya bitişiğinde bulunan östrojen reseptörlerinin bir alt popülasyonu aracılığıyla gerçekleşir; E2 tarafından indüklenen bu **genomik olmayan (non-genomik)** sinyal yolları uterus veya yumurtalık hücrelerinin E2'ye maruz kalmasının iyon akışı, siklik adenosin monofosfat üretimini ve fosfoinozid-3-kinaz (PI3K) aktivasyonunu hızla indükleyebileceği gözlemiyle belirlenmiştir (Aronica ve

ark., 1994). Genomik olmayan östrojen düzenlenmesinde net tanımlanmış yollardan bir diğeri ise ras proteini aracılığıyla ERK yolunun aktivasyonudur (Silva ve ark., 2016). Sonuç olarak E2'nin nükleer östrojen reseptörleri aracılığıyla etkisini tamamlaması haftalar ile aylar içerisinde gerçekleşirken, aynı steroid hormonun membran östrojen reseptörleri aracılığıyla aktive ettiği genomik olmayan sinyal kinazları ile etkisini dakikalar hatta saniyeler içerisinde gerçekleştirdiği bilinmektedir.

Endometriozis ve kanser hücre istilası, sınırsız büyüme, yeni kan damarlarının gelişimi ve apoptoz geçiren hücre sayısında azalma gibi çeşitli yönlerden benzerlik gösterir. Normal endometriumda proliferasyon ve apoptoz kontrolündeki anormallikler neoplazi gelişimine katkıda bulunabilir. Özellikle yüksek metastatik karakterdeki kanserler, düşük metastatik karakterdeki kanserlere kıyasla apoptotik hücre ölümüne karşı daha yüksek bir direnç sergilerler (Glinsky ve Glinsky 1996). Endometriotik dokularda artmış survivin gen ifadenmesi tespit edilmiştir. Survivin kaspaz-3 aracılı apoptozisi antagonize edebilir ve daha sonra endometriozis gelişimini teşvik edebilir ve ayrıca kanser hücrelerinin daha agresif bir fenotipi ile ilişkili olabilir. Bu yol apoptozise dirençte etkin bir yol olarak tanımlanmıştır. Kanser hücrelerinde apoptozise direnç gelişiminde etkin yollardan bir diğeri ise kaspaz-9 fosforilasyonudur. Mitokondriyal veya intrinsik apoptotik yol X'e bağlı apoptoz protein inhibitörü (XIAP) gibi kaspaz inhibitörü proteinler tarafından sitokrom c salınımının akış aşağısında düzenlenir (Deveraux ve ark., 1997). XIAP'nin aktivitesi, mitokondriden Smac/DIABLO gibi diğer faktörlerin salınmasıyla kontrol edilebilir (Shiozaki ve Shi, 2004). Buna ek olarak XIAP ve kaspaz-9 gibi sinyal bileşenleri, sinyal yolları tarafından aktive edilen protein kinazlar tarafından fosforilasyon yoluyla posttranslasyonel olarak düzenlenir. Birçok hücre tipinde apoptozu baskılayabilen ERK, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolu, büyüme faktörü ile uyarılan hücrelerde kaspaz-9'u inhibitör bir bölge olan Thr125'ten fosforiller (Allan ve ark., 2003). Kaspaz-9 ayrıca protein kinaz B (AKT) (Cardone ve ark., 1998) ve protein kinaz A (PKA) (Martin ve ark., 2005) tarafından da hedeflenebilir ve mitogenez sırasında ve muhtemelen hücre streslere yanıt olarak apoptozu sınırlayabilir. Kanser hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol alabilecek kaspaz-9 fosforilasyonunun hedeflenmesi kanser tedavisinde hedef

noktalardan biri olabilir. On yıllar boyunca yapılan araştırmalar *Momordica charantia*’nın farmakolojik etkileri aşamalı olarak araştırmıştır. *Momordica charantia*’nın çeşitli ekstreleri ve *Momordica charantia*’dan izole edilen biyolojik ve farmakolojik olarak aktif moleküllerin kanser hücre hatlarında ve ksenograft fare modellerinde önemli anti kanser aktivitesi gösterilmiştir (Sur ve Ray, 2020).

Momordica charantia, Cucurbitaceae familyasına ait olan, hem gıda hem ilaç olarak kullanılan tropikal bir meyvedir (Batran ve ark., 2006). Türkiye’de “kudret narı” olarak bilinmektedir (Semiz ve Sen, 2007). *Momordica charantia*, glikozitler, saponinler, alkaloidler, sabit yağlar, triterpenler, flavonoidler, proteinler, steroidler ve vitaminler gibi biyolojik olarak aktif bileşenler içermektedir ve antidiyabetik, antiviral, antitümör, antibakteriyel, antelmintik, antimitojenik, antimikobakteriyel, antioksidan özellikler göstermektedir (Raman ve Lau, 1996). *Momordica charantia*’nın farklı kısımlarından elde edilen bitki ekstreleri ile belirli kanser hücre hatları üzerinde birçok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmalardan elde edilen veriler *Momordica charantia*’nın antikanser aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Daha önce Başaran ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada *Momordica charantia* tohumu ve aril ekstrelerinin meme kanseri hücre hattı üzerindeki antiproliferatif ve proapoptotik etkileri araştırılmış ve bu araştırma sonucunda ekstrelerin MCF-7 ve MDA MB-231 hücrelerinin büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiğı ve kaspaz-9 ve kaspaz-3 aracılı apoptozu indüklediğı görülmüştür (Basaran ve ark., 2020). Asta ve ark. tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *Momordica charantia* çekirdek ekstresinin insan prostat kanseri LNCaP hücrelerinin büyümesi ve dihidrotestosteron (DHT) kaynaklı hücre göçü üzerindeki inhibe edici etkisi araştırılmış ve LNCaP hücrelerinin *Momordica charantia* çekirdek ekstresi ile tedavisinin ardından ERK1/2 ve AKT aktivasyonunda ve kaspaz-9’un fosforilasyonunda önemli ölçüde azalma görülmüş ve hücrelerde apoptotik hücre ölümü gözlemlenmiştir (Asta ve ark., 2023). *Momordica charantia*’nın kanser hücreleri üzerinde yapılan çalışmalardaki etkinliğinden yola çıkarak, bu çalışmada östrojene duyarlı insan endometrium kanseri hücrelerinde (RL95-2) östrojen reseptörünün 17- β -östradiol ile uyarılarak aktive edilmesi sonrası *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresi ile tedavinin bu hücrelerde genomik olmayan sinyal ileti mekanizması üzerinden antiproliferatif etkisinin moleküler mekanizmasını aydınlatmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endometrium Kanseri

Rahim kanseri, rahim gövdesinde meydana gelen bir malignansi olarak tanımlanır ve rahim iç zarından (endometrium) veya rahmin kas tabakasından (myometrium) orijin alabilir (American Cancer Society, 2018). Rahim kanserinin endometriumdan kaynaklanan adenokarsinomlar ve myometriumdan kaynaklanan sarkomlar olmak üzere iki ana türü vardır. Endometrial adenokarsinomalar tanımlanan uterus kanserlerinin %75 ila %80'ini oluşturur ve uterus sarkomlarından farklı şekilde tedavi edilir (Adult Treatment Editorial Board, 2023). Endometrium kanseri Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde en sık görülen jinekolojik malignitedir ve muhtemelen obezitenin artan prevalansı nedeniyle malignite oranları yükselmeye devam etmektedir (Leitao ve Barakat, 2014; Morice ve ark., 2016). Endometrium kanserinde erken teşhis genellikle daha iyi sonuçlara yol açarken ileri evre endometrial malignitelerde ilk beş yılda sağ kalım evre 3 hastalarda %47-58 iken evre 4 hastalarda %15-17 arasındadır (American Cancer Society, 2023).

2.1.1. Endometrium Kanseri Görülme Sıklığı (İnsidansı)

Endometrium kanseri, ABD'de kadınlar arasında görülen malignitelerde dördüncü sırayı ve kanserden ölümlerde altıncı sırayı yer etmektedir (American Cancer Society, 2018). ABD'de görülme sıklığı beyaz ve siyah kadınlarda sırasıyla yılda yaklaşık %1 ve %2,5 oranında artmaktadır (American Cancer Society, 2018). Ölüm oranları da yine ABD'de beyaz kadınlar arasında her yıl %1,5; siyah kadınlar arasında ise %2,1 oranında artmaktadır (American Cancer Society, 2018). Endometrial karsinoma, genellikle menapoz sonrası kadınlarda teşhis edilirken vakaların %14'ü hala menapoz öncesi kadınlarda görülmekte ve %5'i 40 yaşın

altındaki kadınlarda ortaya çıkmaktadır (Morice ve ark., 2016). ABD’de ortalama teşhis yaşı 63’tür (National Cancer Institute). Endometrium kanserli kadınların çoğunlu (%67) erken evrede teşhis edilir ve kanser rahimle sınırlıdır (National Cancer Institute). Rahimle sınırlı kalmayan endometrium kanserlerinin yaklaşık %19’unda pelvik lenf düğümlerinde ve çevre organlarda (örn. adneksal yapılar) yayılım gözlenirken uzak metastaz oranı %10 olarak belirlenmiştir (National Cancer Institute).

2.1.2. Endometrium Kanserinin Sınıflandırılması ve Histopatolojisi

Endometrium kanseri geleneksel olarak Tip 1 ve Tip 2 olmak üzere iki geniş sınıfa ayrılmıştır (Bokhman, 1983). Bu iki gruplandırma epidemiyoloji, histopatoloji, prognoz ve tedaviye göre farklılık gösterir (Kurman ve ark., 2014). Tip 1 kanserler tanılarının çoğunu oluşturur (%85), 5 yıllık genel sağ kalım oranı %85’tir ve genellikle düşük nüks oranlarına (%20) sahiptir (Morice ve ark., 2016). Tip 1 kanserler tipik olarak iyi bir prognoza sahiptir çünkü düşük derecelidirler ve tanı anında genellikle uterusla sınırlıdır (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2015). Endometrial intraepitelyal neoplazi (kompleks atipik endometrial hiperplazi) tip 1 tümörlerin öncü lezyonları olarak kabul edilir ve genellikle kalınlaşmış endometrium ile ilişkilidir. Genellikle genç, obez ve perimenapozal kadınlarda görülür. Tip 1 tümörler endojen veya eksojen kaynaklardan aşırı östrojen maruziyetine yakınlık yaratan durumlarla ilişkilidir (Burke ve ark., 2014). Tip 1 kanserler primer olarak düşük dereceli endometrioid adenokarsinomları içerir (International Federation of Gynecology and Obstetrics [FIGO] grades 1 and 2). FIGO derecelendirme sistemi mimari paterni ve nükleer dereceyi değerlendirir (Adult Treatment Editorial Board, 2023). Evre 1 kanserler %5’in altında solid bileşen içerirler. İyi farklılaşmışlardır, normal dokuya daha çok benzerler ve tipik olarak iyi bir prognoza sahiptirler (Kurman ve ark., 2014). Evre 2 kanserler normal endometriuma benzeme açısından evre 1 ve evre 3 arasında yer alırlar. Endometriumda %6-50 solid bileşene sahiptirler ve orta derecede farklılaşmışlardır. Evre 3 kanserler sağlıklı endometrial dokuya benzemezler, yüksek dereceli olarak kabul edilir ve az farklılaşmıştır. Aynı zamanda daha kötü prognozlu ve daha agresif olma eğilimindedirler. Bu tipte endometrial alanda %50’den fazla solid komponent bulunmaktadır. Evre 1 ve evre 2 tümörler

genellikle düşük dereceli olarak sınıflandırılır ve tip 1 sınıflandırmasına girer; evre 3 tümörler yüksek dereceli tümörler olarak sınıflandırılır ve tip 2 sınıflandırmasına girerler (The American College of Obstetricians and Gynecologists, 2014).

Tip 2 kanserler tanım gereği yüksek dereceli olarak kabul edilir ve başlıca seröz (%10) karsinomları ve berrak hücreli (<%5) karsinomları içerirler (Barakat ve ark., 2013). Bu bilgilere ek olarak, endometrioid tümörlerin yaklaşık %20'si yüksek dereceli (FIGO evre 3) olarak ortaya çıkar ve tip 2 olarak sınıflandırılabilir (Morice ve ark., 2016). Karışık hücreli, farklılaşmamış, dediferansiye, nöroendokrin ve malign müllerian tümörler olarak bilinen karsinosarkomlar bu kategoriye girerler ancak seröz ve berrak hücreli histolojiden çok daha az yaygındırlar. Tip 2 tümörler agresif olarak kabul edilir ve genellikle ileri bir aşamada ortaya çıkar. Bu tümörler histolojileri gereği kötü prognoza sahiptir ve daha yüksek nüks oranı (yaklaşık %50) gözlenir ve 5 yıllık sağ kalım oranı (%55) düşüktür (Morice ve ark., 2016). Sonuç olarak tip 2 tümörlerin genellikle yaşlı kadınları etkilediği ve ince, atrofik endometriumda gelişebildiği ve afro-amerikan kadınlarda daha yaygın olduğu bilinmektedir (Boruta ve ark., 2009).

2.1.3. Endometrium Kanseri Risk Faktörleri

Endometrium kanserinde en önemli risk faktörleri yaş, ırk, metabolik sendrom, karşı konulmamış östrojen maruziyeti ve genetik yatkınlık olarak sıralanabilir.

2.1.3.1. Yaş

Endometrium kanseri, ilk olarak postmenapozal dönemdeki kadınları etkileyen bir hastalıktır ve tanı konulan hastaların yaş ortalaması 60'tır (American Cancer Society, 2023). Vakaların %85'i 50 yaşından sonra, %5'i ise 40 yaşından önce ortaya çıkmaktadır (Barakat ve ark., 2013). Tanı alan genç, premenopozal kadınların vücut kitle indeksi yüksektir, yumurtlama döngüleri yoktur ve endometrial karsinoma gelişimine genetik yatkınlıkları vardır.

2.1.3.2. Irk

Endometrium kanseri gelişiminde kadının ırkının önemli bir rol aldığı görülmüştür; hastalığın görülme sıklığı Kuzey Amerika ve Kuzey Avrupa'da en yüksek; Doğu Avrupa ve Latin Amerika'da daha düşük; Asya ve Afrika'da ise en düşüktür (Barakat ve ark., 2013). Görülme sıklığına katkıda bulunabilecek faktörler arasında obezite prevalansı, metabolik sendromlar ve hormon replasman tedavisinin beraberinde nüfusun genel yaşlanması da yer almaktadır. ABD'de beyaz kadınların yaşam boyu endometrium kanseri geliştirme riski afro-amerikan kadınlara göre (sırasıyla %2,8 ve %1,69) daha yüksektir. Bununla birlikte, afro-amerikan kadınların tanı anında tip 2 tümörlere ve ileri evreye sahip olma olasılığı beyaz kadınlara göre daha yüksektir (Burke ve ark., 2014).

2.1.3.3. Metabolik Sendrom

Metabolik sendrom için risk faktörleri arasında yüksek kan basıncı, yüksek trigliserit, düşük HDL kolesterol, obezite ve yüksek kan şekeri yer almaktadır. Tip 2 diyabet ve hipertansiyon epidemiyolojik olarak endometrial karsinomun artışında önemli risk faktörleri arasındadır ancak bu riskin eş zamanlı olarak obezite ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir (Burke ve ark., 2014; Leita ve Barakat, 2014).

2.1.3.4. Karşılıksız Östrojen Maruziyeti

Östrojenin indüklediği endometrial büyüme, progesteron müdahalesi ile inhibe edilir (Critchley ve Saunders, 2009). Progestin karşıtlığı olmaksızın uzun süre östrojene maruz kalmak Tip 1 endometrial karsinoma için bir risk faktörüdür. Östrojene maruz kalma eksojen ve endojen formlardan kaynaklanmak üzere iki şekilde gerçekleşebilir. Östrojene eksojen maruziyet hormon replasman tedavisi ile; endojen östrojen maruziyeti ise kronik anovülasyon, östrojen üreten tümörler ve obezite ile ortaya çıkabilir. Aşırı östrojen maruziyeti ile ilişkili risk faktörleri şu şekildedir:

- Obezite: Obezite, hiperplazinin endometriumun malign karsinomuna dönüşümündeki en belirgin risk faktörüdür (Leita ve Barakat, 2014). Adipoz hücrelerde androjenlerin östrona periferik dönüşümü gerçekleşir. Yağ dokusu tarafından üretilen bu aşırı östrojen endometrial duvarın proliferasyonunu uyarır ve

sıklıkla karsinogenezele sonuçlanır. Bu nedenle obezitenin endometrial karsinoma riskine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Leitao ve Barakat, 2014).

- Hormon replasman tedavisi: Menapoz semptomlarını kontrol altında tutmak için ilaç yoluyla östrojenin yerine konması sağlanır. Bu durum eksojen östrojen maruziyetine bir örnektir. Karşılanmamış östrojen replasmanı, endometrial karsinoma gelişme riskinde 20 kata kadar artışa neden olur ve replasman kullanım süresi de bu riski artırmaktadır (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2015). Bu riski azaltmanın yollarından biri eş zamanlı progestin kullanımıdır (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2015).

- Üreme faktörleri: 12 yaş öncesi dönemde menarşın başlaması, infertilite, doğum yapmama, geç menopoz ve kronik anovülasyon (örn. polikistik over sendromu) artmış östrojen maruziyeti ile ilişkili olan üreme faktörleridir (Adult Treatment Editorial Board, 2023).

- Tamoksifen tedavisi: Tamoksifen tedavisinin kullanımı meme kanseri ve meme kanserinin nüks etme riskini anlamlı bir şekilde azaltırken, aynı zamanda endometrial karsinoma gelişme riskinin artmasıyla da ilişkili bulunmuştur (Leitao ve Barakat, 2014). Tamoksifen seçici bir östrojen reseptör modülatörüdür (SERM) ve meme dokularında östrojen antagonisti olarak görev yaparken, kemik ve endometriyal dokularda östrojen agonisti olarak görev yapar. Yapılan çalışmaların çoğunda tamoksifen kullanan kadınlarda endometrial karsinoma görülme riskinin genel popülasyona göre 2-3 kat daha yüksek olduğu ortaya koyulmuştur (American College of Obstetricians and Gynecologists, 2014).

- Genetik yatkınlık: Endometrial karsinomaların büyük çoğunluğundan sporadik mutasyonlar sorumludur. Genetik mutasyonlardan kaynaklanan endometrial karsinomalar ise vakaların %5'ini oluşturur ve genellikle sporadik endometrial karsinoma'dan 10 ila 20 yıl önce ortaya çıkmaktadır. Lynch sendromu ve Cowden sendromu gibi genetik yatkınlık sendromları endometrium kanseri için birer risk faktörüdür (Aaltonen ve ark., 2017; Staff ve ark., 2016).

Endometrial tümörlerin çoğunluğunun hormonal olarak yönlendirildiği ve östrojen reseptörü alfa aracılığıyla östrojen sinyalinin onkogenik bir sinyal olarak hareket ettiği düşünülmektedir. Endometrial kanser hastaları için başlıca risk faktörleri ve bazı tedavi seçenekleri hastalıkta östrojen sinyalinin kilit rolünü vurgulamaktadır.

2.2. Östrojen Reseptörü ve Östrojen Sinyal Yolakları

Östrojen, östrojen reseptörü aracılığıyla genomik veya genomik olmayan bir şekilde sinyal verebilir. Genomik sinyalizasyon östrojen reseptörünün genoma bağlanmasına ve transkripsiyonu düzenlemesine neden olan östrojenlerin tipik steroid hormon reseptör eylemini gerçekleştirmesi anlamına gelir. Genomik olmayan sinyalizasyonda östrojen reseptörü hücre yüzeyine (membranına) bağlıdır ve östrojenleri bağladığında diğer sinyal yolaklarını (örn. cAMP, MAPK) aktive eder (Losel ve Wehling, 2003). Bu yol genomik yola göre daha hızlı yanıtlar verilmesini sağlar. Östrojen reseptörü genomik olmayan eylemleri muhtemelen normal endometrium ve endometrial kanserde rol oynarken uterusda östrojenlere yanıt olarak artan protein sentezi ve RNA sentezi için gerekli olduğu gösterilmiştir (Ui ve Mueller, 1963).

2.2.1. Östrojen Reseptörleri

Östrojen, kolesterol türevleri olan bir grup steroid hormondur. Kadınlarda öncelikle yumurtalık ve plasenta tarafından üretilir (Fuentes ve Silveyra, 2019). Erkeklerde adrenal korteks tarafından da östrojen üretilir. Östrojen kadınların adet döngüsünde, doğurganlıkta ve çeşitli fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerde önemli işlevleri yerine getirir (Faltas ve ark., 2020). Ayrıca, hedef hücrelerin gelişimi, çoğalması, göçü ve hayatta kalmasında östrojenin rolü vardır (Acconcia ve Kumar, 2006). Östrojenler kökenlerine göre iki ana kategoriye ayrılır: 1) Endojen östrojenler hayvanlardaki östrojen ve bitkilerdeki fitoöstrojenler dahil olmak üzere canlı organizmalar tarafından sentezlenir (Flasch ve ark., 2022). 2) Eksojen östrojenler: sentetik östrojenlerden, yiyeceklerden ve ilaçlardan türetilir (Ohta ve ark., 2015). İnsanlarda şimdiye kadar dört östrojen tanımlanmıştır. Bunlar: östron (E1), 17- β -östradiol (E2), östriol (E3) ve östetrol (E4)'dür (Kumar ve Goyal, 2021). Bunların arasında en yüksek biyolojik aktiviteyi gösteren E2'dir (Acconcia ve Kumar, 2006). Bu nedenle

"östrojen" terimi tipik olarak E2'yi ifade eder (Fuentes ve Silveyra, 2019). Östrojenler, östrojen reseptörleri (ER'ler) ile etkileşime girerek biyolojik etkilerini gösterirler. ER'ler, östrojen yanıt elemanları (ERE'ler) aracılığıyla gen transkripsiyonunu düzenleyen, ligand bağımlı transkripsiyon faktörleridir. Biyolojik süreçlerde rol oynayan üç baskın tip ER bulunur. Bunlar klasik olan ER α ve ER β ile klasik olmayan G proteinine bağlı östrojen reseptörü 1 (GPER1)'dir. E2 ER α , ER β ve GPER1 için yüksek bir afiniteye sahiptir (Russell ve ark., 2019).

ER α ilk olarak Jensen ve Jacobson tarafından tanımlanmıştır (Jensen ve Jacobson, 1962). Daha sonra ER β , 1996'da Kuiper ve arkadaşları tarafından keşfedilmiştir (Kuiper ve ark., 1996). ER α üreme dokularında (örneğin rahim ve yumurtalık), kemikte, beyaz yağ dokusunda, böbrekte, karaciğerde ve göğüste eksprese edilir. ER β ise erkek üreme organlarında, merkezi sinir sisteminde (MSS), kardiyovasküler sistemde, akciğerde, bağışıklık sisteminde, kolonda ve böbrekte eksprese edilir (Jia ve ark., 2015). Hedef genlerin promoter bölgelerinde transkripsiyonel olayları başlatabilen bu klasik nükleer ER'lerin dışında E2'nin hızlı, genomik olmayan sinyalleşme olaylarında da rol aldığı rapor edilmiştir (Ge ve ark., 2013). GPR30 adı verilen yeni bir 7-transmembran alanlı G-proteini bağlı reseptör (GPCR) ilk kez 1997 yılında tanımlanmış ve klonlanmıştır (Carmeci ve ark., 1997). Yapılan iki farklı araştırmada, E2'nin doğrudan GPR30'a bağlanarak reseptörü aktive etmesi sonucu hücrel sinyal iletiminin gerçekleştiği ve bunun da aşağı akış hücrel yolların modülasyonuna yol açtığı görülmüş ve böylece GPR30'un membrana bağlı bir ER görevi gördüğünü gösteren veriler öne sürülmüştür (Revankar ve ark., 2005; Thomas ve ark., 2005). GPR30, 2007 yılında resmi olarak GPER veya GPER1 olarak adlandırılmıştır (Alexander ve ark., 2011).

2.2.1.1. Östrojen Reseptörlerinin Yapısı

ER protein molekülü, amino terminalinden karboksil terminaline kadar A/B, C, D ve E/F domainlerinden oluşur. ER α ve ER β sırasıyla kromozom 6 (6q25.1) üzerindeki ESR1 (Gosden ve ark., 1986) ve kromozom 14 (14q23.2) üzerindeki ESR2 (Enmark ve ark., 1997) tarafından kodlanır. Tam uzunluktaki ER α ve ER β , bağlı moleküler kütleleri sırasıyla 66 ve 60 kDa olan 595 ve 530 amino asitten oluşmaktadır (Li ve ark., 2004). A/B domainleri proteinin amino- veya N terminal domaini (NTD)'nde

yer alır ve ligand bağlanmasından bağımsız olarak hedef genlerin transkripsiyonel aktivasyonundan sorumlu olan aktivasyon fonksiyonu-1 (AF-1) motifini içerir. ER α aktivasyon işlevlerini NTD'de bulunan AF-1 aracılığıyla sergiler (Beato, 1989). DNA-bağlama domain (DBD) olarak bilinen C domaini yüksek oranda korunur ve reseptör dimerizasyonunda rol oynar, ER'lerin DNA-bağlama yeteneğini artırarak DNA üzerindeki spesifik ERE'ye bağlanmasını sağlar. C ve E domainlerini birbirine bağlayan bir menteşe bölgesi olan D domaini, ısı şoku proteinlerine (Hsp) bağlanan ve C domaininin DNA bağlama işlevini stabilize eden bir nükleer lokalizasyon sinyali içerir (Kuiper ve ark., 1996). Ligand bağlama domaini (LBD) olarak da bilinen karboksil- veya C-terminal domaini hem E2 bağlama domainini (AF-2 motifli E domaini) hem de ER transkripsiyon aktivitesini modüle edebilen F domainini içerir. ER β aktivasyon işlevlerini LBD'de bulunan AF-2 aracılığıyla sergiler. AF-1 ve AF-2 gen transkripsiyonunu ayrı ayrı veya sinerjik olarak tetikleyebilir (Kumar ve ark., 2011).

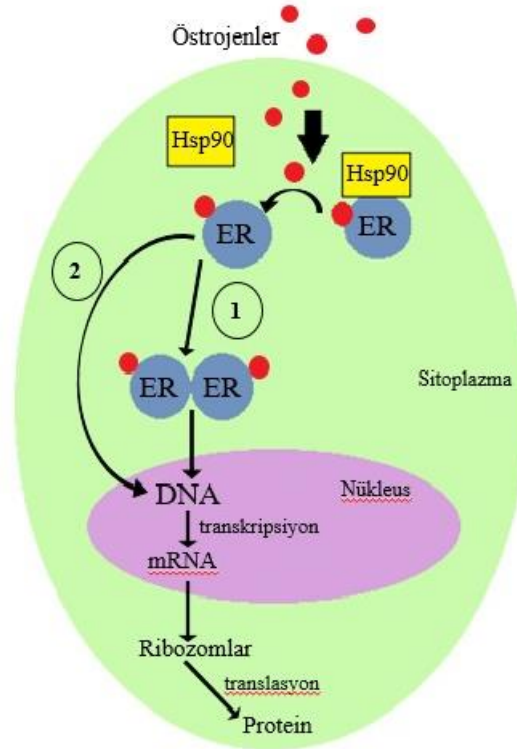
2005 yılında alternatif gen splicinginden kaynaklanan, ER- α 36 olarak adlandırılan yeni bir ER α splice varyantı tanımlanmıştır. ER- α 36, AF-1 ve AF-2'den yoksundur son 138 amino asidin yerini alan benzersiz bir 27 amino asitlik C-terminal bölgesine sahiptir (Wang ve ark., 2005). Plazma membranında bulunan ER- α 36 genomik olmayan östrojen sinyalizasyonunun aktive edilmesinde görev yapar (Wang ve ark., 2006).

GPER, kromozom 7 (7p22.3) üzerinde kodlanır ve 375 amino asitten oluşur (O'Dowd ve ark., 1998). G proteinine bağlı reseptör süper ailesine ait GPER1, yedi transmembran α -heliks, dört hücre dışı segment ve dört sitozolik segmentten oluşan bir yapıya sahiptir (Barton ve ark., 2018). GPER1'in östrojene bağlanma afinitesi zayıftır (Prossnitz ve Barton, 2014).

2.2.2. Genomik Östrojen Reseptör Sinyal Yolağı

Östrojenler genomik etkilerini klasik nükleer ER'lere (ER α ve ER β) bağlanarak gösterirler. Östrojen sinyalizasyonunun klasik mekanizması olarak bilinen genomik östrojen sinyal yolunda, hücre içinde bulunan ER α ve ER β , reseptörleri inaktif bir durumda tutan Hsp'lerle (örn. Hsp90, Hsp70 ve Hsp56) birleşmiş durumdadır ve

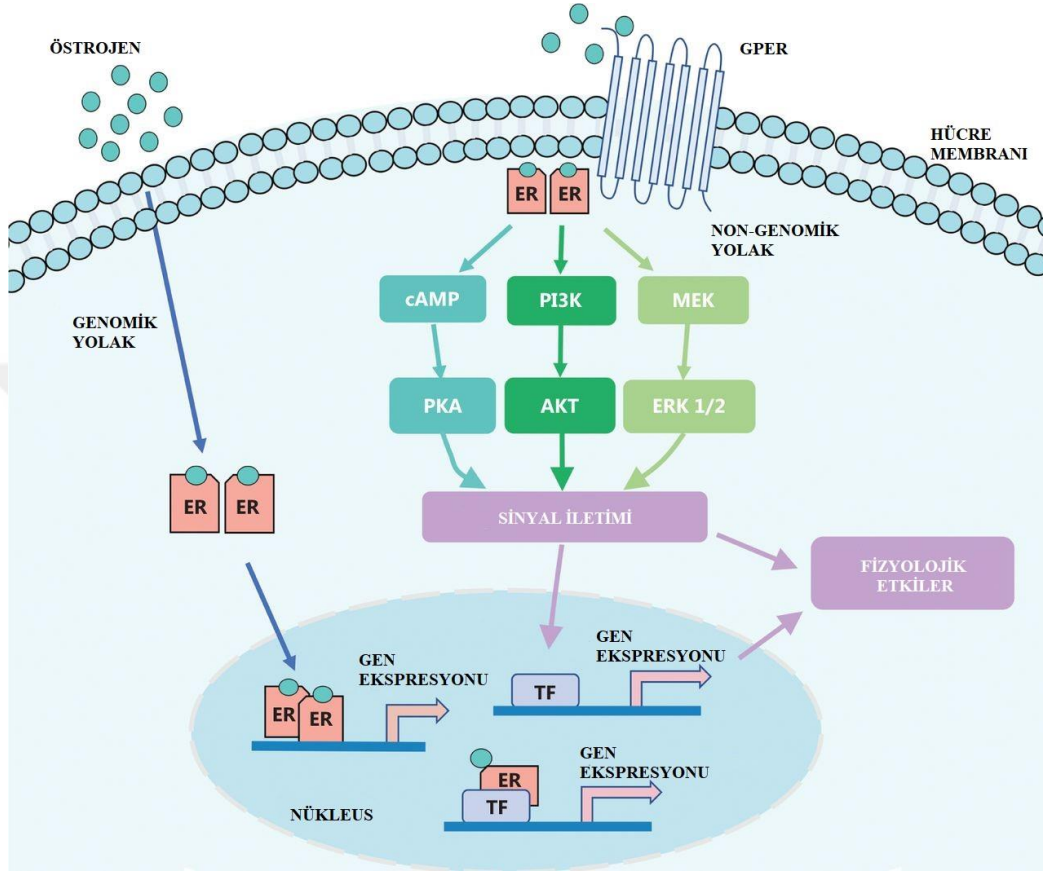
E2'nin bu reseptörlere bağlanmasıyla birlikte reseptörler Hsp'den ayrılır ve konformasyonel değişiklik meydana gelerek E2-reseptör dimer kompleksi oluşur (Şekil 2.1.). Bu kompleks daha sonra çekirdeğe girer ve çekirdekte ERE'ye bağlanır ve böylece bu nükleer ER'ler gen transkripsiyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörleri olarak görev yapar (Fuentes ve Silveyra, 2019). ERE ile doğrudan etkileşime ek olarak, klasik olmayan mekanizmada ise E2-reseptör kompleksi, aktivatör protein-1 (AP-1) ve uyarıcı protein-1 (Sp-1) gibi transkripsiyon faktörleri ile protein-protein etkileşimleri yoluyla hareket ederek gen transkripsiyonunun düzenlenmesini sağlar (Fuentes ve Silveyra, 2019). Bu sürecin sonucunda östrojenin aracılık ettiği gen ürünleri otofajiyi, proliferasyonu, apoptozu, hayatta kalmayı, farklılaşmayı ve vazodilatasyonu düzenler. Ancak anormal koşullar altında bu genlerin işlevleri bozulabilir. ER α ve ER β 'nin hücre içi konumundan dolayı aktivasyon genellikle saatler veya daha fazla sürmektedir. Bu nedenle ER α ve ER β yavaş genomik etkiye sahiptir. Anormal ER sinyali, çeşitli kanserler (Faltas ve ark., 2020) ve polikistik over sendromu ve endometriozis (Acconcia ve Kumar, 2006) gibi birçok bozuklukla sonuçlanabilir.



Şekil 2.1. Östrojen aracılı genomik ER sinyal yolu (Kalesnykas, 2005).

2.2.3. Genomik Olmayan (Non-genomik) Östrojen Reseptör Sinyal Yolağı

Steroid hormon aracılı genomik olmayan sinyalleşme çeşitli sinyal iletim yollarını düzenleyebilir (Şekil 2.2.).

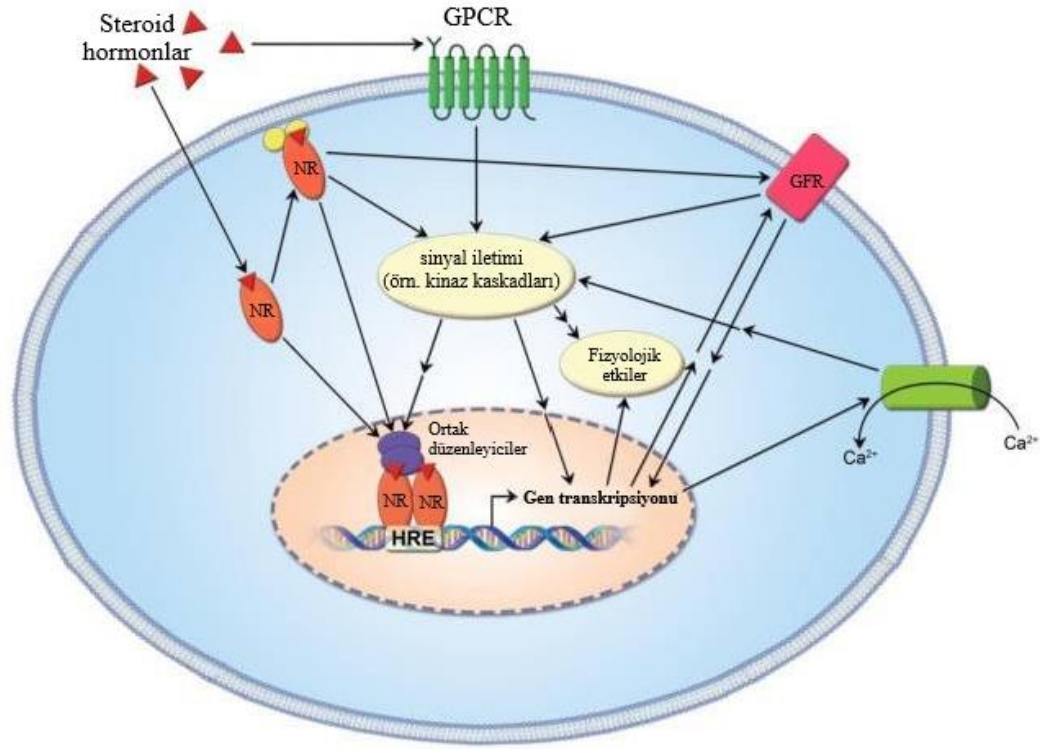


Şekil 2.2. Östrojen aracılı genomik ve non-genomik sinyal yolları (Deng ve Jin, 2022).

Hücre zarına lokalize östrojen reseptörü, progesteron reseptörü ve androjen reseptörünün MAPK/ERK, PI3K/AKT, nitrik oksit (NO), protein kinaz C (PKC), kalsiyum akışı aktivitesini modüle ettiği ve otofaji, proliferasyon, apoptoz, hayatta kalma, farklılaşma gibi hücre süreçlerini teşvik etmek için hücre içi inositol trifosfat (IP₃) seviyelerini arttırdığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2015; Schwartz ve ark., 2016; Song ve ark., 2002; Zhao ve Brinton, 2007). Östrojenlerin membran lokalize östrojen reseptör yoluyla hızlı (saniyeler içerisinde) kalsiyum akışını indüklediği gösterilmiştir (Morley ve ark., 1992; Liu ve ark., 2013). Östrojen reseptör-kalsiyum dinamiğindeki bu değişim MAPK/ERK gibi kinaz yolaklarının aktivasyonuna yol açarak hücre göçü ve proliferasyonu gibi hücrel etkilere neden olabilir (Hao ve ark., 2015; Zhao ve Brinton, 2007). Alternatif olarak E2'nin önemli glikoliz

enzimleri olan 6-fosfofrukto-2-kinaz/fruktoz-2,6-bifosfataz 3 enzimleri üzerinden GPER aracılı anjiyogenezi aktive ettiği gösterilmiştir (Trenti ve ark., 2017). Membran nükleer reseptörleri ayrıca büyüme faktörü reseptörleri ile çapraz konuşma yoluyla hızlı sinyalleşmeye aracılık edebilir. Örneğin membran lokalizasyonlu streoid hormon reseptörleri çeşitli yolakları aktive etmek için büyüme faktörü reseptör kinazları aktive edebilir (Fujiwara ve ark., 2012; Ruhs ve ark., 2017). Bu etkileşim steroidle aktive edilen GPER olayları tarafından büyüme faktör reseptörlerinin fosforilasyonu ile gerçekleşebilir. Tersine, büyüme faktörü reseptörlerinin hormon reseptörlerini fosforile edebildiğine dair kanıtlar vardır. Örneğin epidermal büyüme faktör reseptörü (EGFR) meme ve prostat kanseri hücre hatlarında ER/AR kompleksini fosforile edebilir (Migliaccio ve ark., 2005). Buna ek olarak androjenler ve endotelyal büyüme faktörü MAPK sinyali yoluyla paxillinin stoplazmadan çekirdeğe yer değiştirme ve AR (androjen reseptör) ve diğer transkripsiyon faktörlerinin aracılık ettiği transkripsiyonu teşvik etme yeteneğini modüle edebilir. Bu durum paxillinin nükleer dışı kinaz sinyalleri ile nükleer transkripsiyonu arasında bir irtibat işlevi görebileceğini göstermektedir (Sen ve ark., 2010; Sen ve ark., 2012). Benzer bir çapraz konuşma reseptör tirozin kinaz insülin ile ilişkili büyüme faktörü-1 reseptörü (IGF-1R) ve ER  arasında meydana gelir. IGF-1R sadece ER 'yı aktive etmekle kalmaz aynı zamanda IGF-1R'nin inhibisyonu östrojen aracılı ER  aktivitesini aşağı doğru düzenler, bu da IGF-1R'nin maksimum ER  sinyali için gerekli olduğunu düşündürür. Ayrıca  strojen reseptörü MAPK dahil IGF-1R yolaklarını aktive eder (Fagan ve Yee, 2008). GPER, EGFR'nin işlenlenmesinde klasik ER'den bağımsız olarak rol oynayabilir ve E2 varlığında EGF'ye benzer bir etki meydana getirebilir (Filardo ve Thomas, 2005).

Doğrudan genomik olmayan sinyal iletim yolları tarafından aktive edilen fizyolojik etkilere ek olarak, genomik olmayan yollarında genomik etkilere yol açabileceğini vurgulamak önemlidir. Bu nedenle bildirilen steroid hormon aracılı genomik etkilerin çoğu aslında kısmen hızlı, genomik olmayan olayların dolaylı sonucu olabilir (şekil 2.3.)



Şekil 2.3. Genomik ve non-genomik sinyal yollarının karşılıklı konuşması (Wilkenfeld ve ark., 2018).

2.3. Kanser Tedavisinde Hedef: Apoptozis

Hücrenin doğal ölüm mekanizması olan apoptoz, antikanser tedavi için umut verici bir hedeftir. Hem intrinsik hem de ekstrinsik yollar, yüzlerce proteinin proteolitik olarak kesilmesi yoluyla apoptozu gerçekleştirmek için kaspazları kullanır. Kanserde, apoptotik yol tipik olarak anti-apoptotik proteinlerin aşırı ekspresyonu ve pro-apoptotik proteinlerin az ekspresyonu gibi çeşitli yollarla inhibe edilir. Bu değişikliklerin çoğu en yaygın antikanser tedavisi olan kemoterapiye karşı hücresel direnç neden olmaktadır. Umut verici yeni antikanser tedavileri, apoptotik yolu aktive ederek antikanser aktivitesi sergileyen bitki kaynaklı bileşikler de içerir.

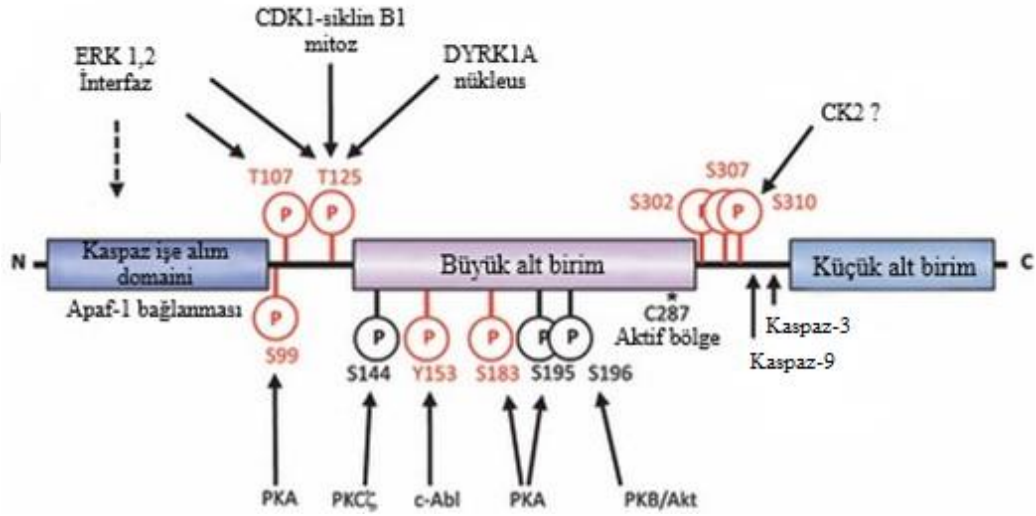
Apoptoz, programlanmış hücre ölümü için hücrenin doğal mekanizmasıdır. Özellikle uzun ömürlü memelilerde kritik bir öneme sahiptir çünkü gelişimin yanı sıra homeostazda kritik bir rol oynar (Hassan ve ark., 2014). Gereksiz veya istenmeyen hücreleri ortadan kaldırmaya yarar ve oldukça düzenlenmiş bir süreçtir. DNA hasarı veya kontrolsüz proliferasyon dahil olmak üzere apoptotik yolun aktive olmasına neden olacak çok çeşitli koşullar vardır (Lopez ve Tait, 2015). Apoptotik yol hem

hücre içi hem hücre dışı sinyaller tarafından aktive edilir (Lopez ve Tait, 2015). Apoptozu yol açan sinyal tipiyle ilişkili intrinsik ve ekstrinsik yollar olmak üzere iki farklı yol vardır. Ekstrinsik yol ölüm reseptörleri aracılı apoptozis, intrinsik yol ise mitokondri aracılı apoptozis olarak bilinir. Hücre içi sinyaller DNA hasarı, büyüme faktörü yoksunluğu ve sitokin yoksunluğunu içerir, en yaygın hücre dışı sinyaller ise bağışıklık sisteminden sitotoksik T lenfositleri tarafından hasarlı veya enfekte hücrelere yanıt olarak üretilen indükleyici sinyallerdir. Bu iki yol kaspazların aktivasyonunda birleşir (Zaman ve ark., 2014). Apoptoz sinyali verilir verilmez hücre içerisinde değişiklikler meydana gelmeye başlar. Bu değişiklikler hücre iskeleti ve nükleer proteinler gibi normal hücresel işlev için gerekli olan hücresel bileşenleri parçalayan kaspazların aktivasyonunu içerir. Kaspaz aktivitesinin bir sonucu olarak apoptotik hücreler küçülmeye başlar ve makrofaj tepkisini işaret eden plazma membranı değişiklikleri meydana gelir (Hassan ve ark., 2014).

Apoptoz, hedef proteinleri parçalayan bir sistein protein sınıfı olan kaspazlar (sistein aspartil spesifik proteazlar) tarafından gerçekleştirilir (Zaman ve ark., 2014). Kaspaz proteaz aktivitesi yüzlerce çeşitli proteini parçaladıkları için başarılı apoptoz için gereklidir (Lopez ve Tait, 2015). Hücrede başlıca dört başlatıcı kaspaz (kaspaz -2, -8, -9, -10) ve üç yürütücü kaspaz (kaspaz -3, -6, -7) vardır (Zaman ve ark., 2014). Yürütücü kaspazlar hedef proteinleri parçalayarak sonunda hücrenin ölümüne yol açarlar. Hücre içerisindeki sinyal yolları yüksek oranda düzenlenmiştir, böylece apoptoz yalnızca sinyal verildiğinde gerçekleşir. Özellikle intrinsik yolak proapoptotik efektör proteinleri, proapoptotik BH3 proteinleri ve antiapoptotik BCL-2 proteinlerini içeren B-hücreli lenfoma-2 protein ailesi tarafından düzenlenir (Lopez ve Tait, 2015). Antiapoptotik BCL-2 proteinleri proapoptotik BAX (BCL-2 ilişkili X proteini) ve BAK (BCL-2 homolog antagonist öldürücü) proteinlerinin inhibisyonu yoluyla apoptozu engeller (Zaman ve ark., 2014). Yalnızca BH3 proteinleri antiapoptotik BCL-2 proteinlerini inhibe eder.

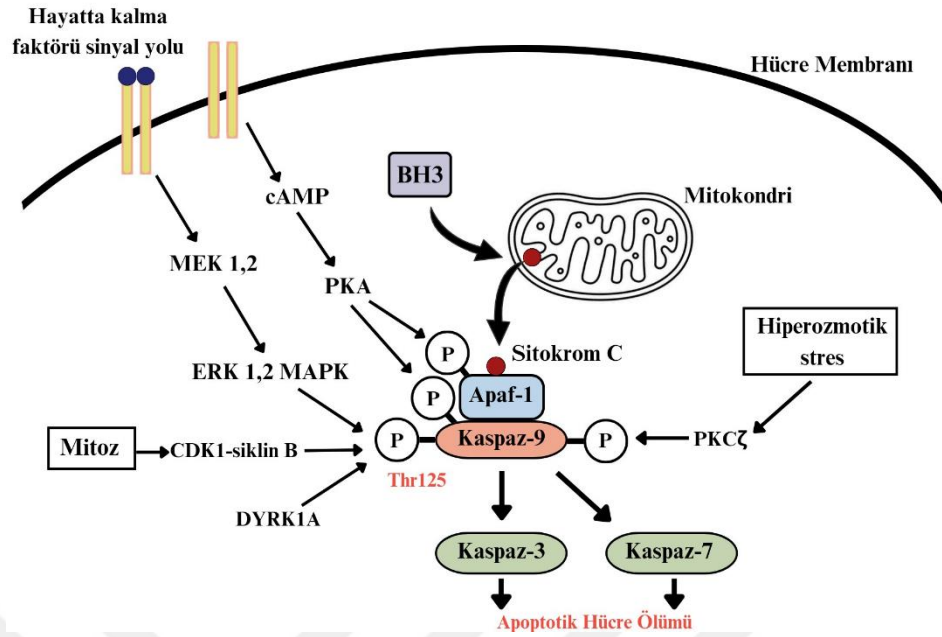
Mitokondriden sitokrom c salınımı, dış mitokondriyal membranın permabilizasyonunu kontrol eden BCL-2 ailesi proteinleri tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir (Youle ve Strasser, 2008). Sitokrom c salınımının aşağı akışında apoptozom işlevi çeşitli tümör tiplerinde azalmış olan kaspaz-9 ve Apaf-1 ekspresyon düzeylerinden etkilenebilir (Schafer ve Kornbluth, 2006). Kaspaz-9'un

enzimatik aktivitesi XIAP tarafından doğrudan inhibe edilir. (Deveraux ve ark., 1997). Bu da kaspaz-9'un ubiquitinasyonuna ve devamında proteozomal degradasyonuna neden olur (Eckelman ve ark., 2006). Buna ek olarak apoptozomun protein fosforilasyonu yoluyla düzenlenmesi yolağın akut kontrolünü sağlayabilir (Schafer ve Kornbluth, 2006). İnsanda kaspaz-9'un fosforillendiği ilk olarak 1998'de bildirilmiştir ve daha sonra hücre dışı sinyallere, hücrel streslere yanıt veren veya hücre döngüsü sırasında aktive olan çoklu protein kinazlar tarafından hedeflendiği gösterilmiştir (Cardone ve ark., 1998) (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Kaspaz-9'un fosforile edildiği bölgeler (Allan ve Clarke, 2009).

Önemli bir bölge olan Thr125'in ve Ser196'nın fosforilasyonu kaspaz-9 aktivasyonunun engellenmesiyle sonuçlanır. Diğer yandan insan hücrelerinde kaspaz-9'un Thr125'ten siklin bağımlı kinaz1-siklin B1 tarafından fosforilasyonu mitotik duraklama sırasında apoptozun kısıtlanmasında kritik bir rol oynar. Kaspaz-9 aktivasyonunun fosforilasyonla baskılanması özellikle kanser hücrelerinde programlı hücre ölümüne karşı direnç mekanizmaları arasındadır (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Kaspaz-9'un protein kinaz sinyal yollarıyla düzenlenmesi (Allan ve Clarke, 2009).

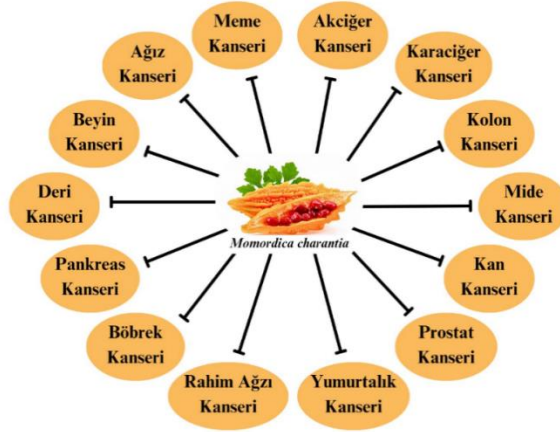
Kaspaz-9 fosforilasyonunun hedef alınması gerek kanser tedavisinde gerekse kansere karşı ilaç geliştirilmesinde bilim dünyasının dikkatini çekmektedir.

Apoptozun düzensizliği çeşitli hastalıklarda sık görülen bir semptomdur. Hızlanmış apoptozis infertilite, immün yetmezlik, akut ve kronik dejeneratif hastalıklarda görülürken gecikmiş veya inhibe olmuş apoptozis kanser ve otoimmünitede karakteristiktir (Hassan ve ark., 2014).

Kanserin ayırt edici özellikleri, nedeni veya türü ne olursa olsun tüm kanser hücrelerinde mevcuttur; bunlar arasında kontrolsüz büyüme, anjiyogenez ve apoptozdan kaçınma yer alır (Arbiser ve ark., 2017; Xu ve ark., 2015). Kanserin önlenmesi apoptozun ana işlevlerinden biridir. Tipik olarak kanserde inhibe edilen yol intrinsik yoldur, ancak apoptozu inhibe etmek için çok çeşitli araçlar vardır. Apoptotik kontrolün kaybı, kanser hücrelerinin daha uzun süre hayatta kalmasını sağlar ve tümör ilerlemesi sırasında invazivliği artırabilen, anjiyogenezi uyarabilen, hücre çoğalmasını düzensizleştirebilen ve farklılaşmayı engelleyebilen mutasyonların birikmesi için daha fazla zaman verir (Hassan ve ark., 2014).

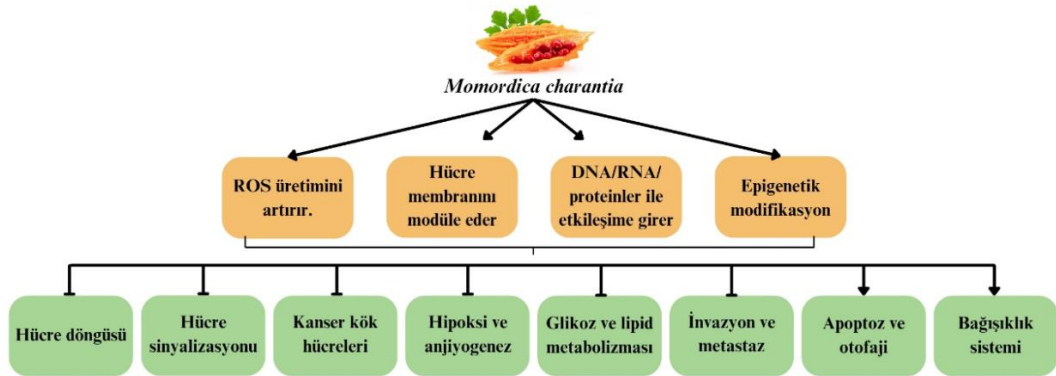
2.4. Kanser Önleme ve Tedavisi İçin Nutrasötik Bir Yaklaşım: *Momordica charantia*

Momordica charantia birçok ülkenin tropikal ve subtropikal bölgelerinde yetiştirilen acı tada sahip otsu bir bitkidir. Geleneksel olarak *Momordica charantia*, farklı ülkelerde halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Meyveleri Güneydoğu Asya’da garnitür olarak da tüketilmektedir. Dilimlendikten sonra kurutulmuş meyvelerden hazırlanan bitki çayı tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır (Jia ve ark., 2017). *Momordica charantia*, kabakgiller arasında en yüksek besleyici değerlere sahiptir ve karbonhidratlar, proteinler, lifler, vitaminler (C, A, E, B1, B2, B3 ve folat) ve mineraller (potasyum, kalsiyum, çinko, magnezium, fosfor, demir) dahil olmak üzere 30’dan fazla tıbbi ürün içerir (Dandawate ve ark., 2016; Fang ve ark., 2019; Raina ve ark., 2016). *Momordica charantia*’nın biyolojik aktivitesi kukurbitan tip triterpenoidler, kukurbitan tip triterpen glikozidler, fenolik asitler, flavanoidler, uçucu yağlar, yağ asitleri, amino asitler, lektinler, steroller ve saponin (goyasaponinler 1, 2, 3) bileşenleri ve meyve, tohum, kök, yaprak ve asmalarda bulunan bazı proteinler dahil olmak üzere başlıca kimyasal bileşenlere bağlıdır (Dandawate ve ark., 2016). Kukurbitan tip triterpenoidler en yaygın kimyasal bileşenlerdir. Bitkideki tipik acılık tadı kukurbitan tip triterpenoidlerin sonucudur (Raina ve ark., 2016). *Momordica charantia* ekstraktları ve aktif bileşenleri laboratuvar kanser hücre hattı tabanlı modellerde ve klinik öncesi hayvan modellerinde çalışılmıştır ancak kanser üzerinde klinik çalışmalar eksiktir. Önleyici çalışmalar kan, meme, kolon, baş ve boyun, karaciğer, prostat, deri ve mide kanserlerinin hayvan modellerinde esas olarak bitkinin su, metanol veya etanol ile hazırlanan ham ekstresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ham ekstraktlar veya izole bileşikler kullanılarak yapılan terapötik çalışmalar kan, beyin, meme, kolon, mide, baş ve boyun, böbrek, karaciğer, akciğer, yumurtalık, pankreas, prostat, deri ve rahim ağzı kanserlerinin in vitro ve in vivo modellerinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. *Momordica charantia*'nın önlediği kanser türleri (Sur ve Ray, 2020).

Momordica charantia'nın biyolojik aktivitesi farklı biyoaktif bileşenlerin kümülatif etkisine bağlıdır. Ham ekstrenin/saf bileşiklerinin kanser önleyici ve tedavi edici etkisi uygulama zamanına, karsinogenezin başlangıç öncesi ve sonrası aşamalarına bağlıdır ancak önleme ve tedavinin moleküler mekanizmalarının benzer olduğu gösterilmiştir. *Momordica charantia*'nın antikanser etkilerinin moleküler mekanizmaları in vitro kanser hücre hattı modellerinde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. *Momordica charantia*'dan elde edilen ekstraktların ve fitofarmasötiklerin antikanser etkileri, ROS (reaktif oksijen türleri) üretimi, detoksifikasyon enzimlerinin aktivasyonu, kanser kök hücre popülasyonlarının inhibisyonu ve kendilerini yenilemesi, hücre döngüsünün inhibisyonu, hücre sinyalizasyonu, invazyon, metastaz, hipoksi, anjiyogenez, glikoz ve lipid metabolizması, apoptoz ve otofajinin indüksiyonu ve bağışıklık sistemindeki modülasyonu ile ilişkilidir (Şekil 2.7.).



Şekil 2.7. *Momordica charantia* ile kanser önleme ve tedavisinin moleküler mekanizmaları. Keskin ok aktivasyonu/indüksiyonu ve küt ok inhibisyonu gösterir (Sur ve Ray, 2020).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. *Momordica charantia* Çekirdek ve Meyve Materyali

Daha önceki çalışmalarda, %70 etanol kullanılarak hazırlanmış olan *Momordica charantia* meyve ekstresi (McME) ve *Momordica charantia* çekirdek ekstresi (McÇE), bu çalışmada RL95-2 endometrium kanseri hücrelerinde antiproliferatif etkisinin genomik olmayan östrojen reseptör sinyal yolağı üzerinden değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

3.2. Hücre Kültürü

İnsan endometrium kanseri hücreleri (RL95-2) %10 FBS (fetal bovine serum; fetal sığır serumu), ve 100 U/mL Penisilin, 100 µg/mL Streptomisin içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) yüksek glikozlu besiyeri ortamında 75 cm² steril flaska ekilip, 37 °C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde kültüre edildi. Hücreler %80-90 yoğunluğa ulaştığı zaman, 75 cm² lik flask için yaklaşık 5 mL %0,25 Trypsin/EDTA (Sigma Aldrich) yardımıyla kültür kabı tabanından koparıldı ve bir başka steril flaska pasajlanarak kültüre devam edildi.

3.3. MTT Deneyi

Sitotoksitenin, hücre canlılığının ve proliferasyonunun belirlenmesinde en sık kullanılan kolorimetrik yöntemlerden biri MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) testidir. MTT sarı renkli bir tetrazolyum tuzudur. Canlı hücreler tarafından, artan mitokondriyal dehidrojenaz enzim aktivitesi ile MTT indirgenerek suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine dönüştürülür. Oluşan mor renkli formazan kristallerini çözmek için ortama dimetil sülfoksit

(DMSO) eklenir ve hücre canlılığı spektrofotometrik olarak belirlenir (Erkekoğlu ve Baydar, 2021).

MTT analizi için RL95-2 hücreleri, 96 kuyucuklu kültür kabına 100 µl'de $1,5 \times 10^4$ hücre olacak şekilde DMEM yüksek glikoz besiyeri ortamında ekildi. Hücreler 24 saat boyunca 37 °C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde kültüre edilerek kültür kabı tabanına tutunmaları sağlandı. 24 saatlik sürenin sonunda kuyucuklardaki besiyeri çekilip atıldı. *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresi, ana stoğu 40 µg/µL olacak şekilde %70'lik etil alkol içerisinde çözülerek hazırlandı. Kuyucuklar gruplara ayrılarak McÇE ve McME 0, 25, 50, 100, 150, 200, 300 ve 400 µg/mL konsantrasyon aralığında ve her bir konsantrasyon için 4 kuyucuk kullanılacak şekilde hücrelere verildi ve 24 saat boyunca inkübe edildi. 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda ekstre içeren besiyerleri çekilip atıldı ve 5 mg/mL stok çözeltisi hazırlanan MTT reaktifinden, her bir kuyucuğa toplamda 100 µL hacimde olacak şekilde 90 µL besiyerine 10 µL eklenerek 1 saat inkübe edildi. Inkübasyon süresinin sonunda MTT çözeltisi içeren besiyeri çekilip uzaklaştırıldı ve oluşan formazan kristallerini çözmek amacıyla kuyucuklara 100 µL DMSO ilave edildi. Kuyucuklardaki mor rengin optik yoğunluğu mikroparka okuyucuda 570 nm dalga boyunda ölçüldü ve hücre canlılığı analiz edildi. Kontrol grubunun canlılık oranı %100 olarak kabul edildi ve farklı konsantrasyonlarda ekstre bulunan kuyucuklardaki ortalama optik yoğunluk kontrol grubuna göre kıyaslandı. Ekstrelerin IC₅₀ (hücre çoğalmasını %50 oranında inhibe eden konsantrasyon) değerleri hesaplandı.

3.4. Hücre Migrasyon Testi (Wound Healing Assay)

17-β-östradiol uygulamasının ve *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstraktları ile tedavinin RL95-2 hücrelerinin migrasyonu (göçü) üzerine olan etkisini incelemek amacıyla migrasyon testi yapılmıştır. Migrasyon testi için RL95-2 hücreleri 24 kuyucuklu plakaya her bir kuyucukta 500 µL besiyeri içerisinde $3,5 \times 10^5$ hücre olacak şekilde ekildi ve 37 °C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edildi. Hücreler yeterli yoğunluğa ulaştığında her bir kuyucuk tabanı 10 µL'lik pipet ucu yardımı ile "+" şeklinde çizildi. Böylece hücre göçünü gözlemlemek için hücresiz bir alan oluşturuldu. Her kuyucuğun 0'ıncı saat fotoğrafları çekildi. Daha sonra kuyucuklardan besiyerleri çekilip atıldı. Kontrol ve sadece 17-β-östradiol uygulaması

yapılacak gruba ekstre içermeyen 500 µL taze besiyeri eklendi. Diğer kuyucuklara 500 µL besiyeri içerisinde 50 ve 100 µg/mL McÇE; 75 ve 150 µg/mL McME eklendi. 6 saat boyunca 37 °C, %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi. 6 saatlik inkübasyon süresinin sonunda fotoğrafları çekildi ve kuyucuklardan besiyerleri çekilip atıldı. Ardından kontrol grubuna sadece taze besiyeri eklendi, diğer kuyucuklara ise her kuyu başına 500 µL besiyeri içerisinde 1 nM 17-β-östradiol uygulaması yapıldı. 15 dakika boyunca 37 °C'de, %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi. 15 dakika sonunda 17-β-östradiol ortamdan uzaklaştırılarak tüm kuyucuklara taze besiyeri eklendi. 48 saat sonrası hücre göçü incelendi ve fotoğrafları çekildi. Boş alanın (çizik alan) her iki yanı arasındaki mesafe image J programı kullanılarak ölçüldü.

3.5. Western Blot Analizi

Western blot, hücrelerden elde edilen kompleks protein karışımından birincil ve ikincil antikor kullanılarak hedef proteinlerin tanımlanmasını, protein fosforilasyonundaki ve ekspresyonundaki değişimlerin saptanmasını sağlayan yüksek hassasiyetli ve yarı kantitatif moleküler bir yöntemdir (Aslım ve Bulut, 2021; Ceviz ve Aydoğan, 2020). Elektroforez, denatüre edici SDS-PAGE (Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi) kullanılarak gerçekleştirilir. Bu yöntem, proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrılmasını sağlar. Jelde yürütülerek molekül ağırlıklarına göre ayrılmış olan proteinlerin jelden membrana transferi gerçekleştirilir. Membran üzerinde spesifik olmayan bağlanmaları engellemek için bloklama işlemi yapılır. Bloklamanın ardından membran hedeflenen proteine özgü primer antikor ile inkübe edilir. Primer antikora, konjuge enzim içeren sekonder antikorun bağlanması sağlanarak kompleks oluşturulur. Sekonder antikorda bulunan işaretleyiciye özgü bir kemilüminesan ajanı ile muamele sonucu reaksiyon oluşur ve görüntüleme gerçekleştirilir.

3.5.1. Hücrelerden Protein İzolasyonu

Hücrelere gerekli tedavi protokolleri uygulandıktan sonra 6 kuyucuklu kültür tabanına tutunmuş hücreler kazıyıcı yardımıyla zeminden kaldırıldı. Hücreler PBS (Fosfat tamponlu salin) yardımı ile 15 mL'lik tüp içerisinde toplandı. Daha sonra

tüpler 4500 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrasında tüplerdeki süpernatant kısım aspire edildi. Protein izolasyonu için hücre peletine 50-70 µL RIPA (radio immunoprecipitation assay; 50 mM Tris, pH 7-8, 150 mM NaCl, %0,1 SDS, %0,5 sodyum deoksikolat, %1 Triton X 100 ve proteaz inhibitör kokteyl) lizis tamponu eklendi. Pipetaj ile pelet lizis çözeltisi içerisinde dağıtıldıktan sonra yeni 1,5 mL’lik tüplere aktarıldı ve -80°C’de en az 24 saat dondur çöz yapıldı. Dondur çöz sonrasında tüpler vortekslendi ve 10000 rpm’de 10 dakika santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrasında süpernatantta toplanan proteinler deney zamanına kadar -80°C’de saklandı.

3.5.2. BCA Yöntemi İle Total Protein Tayini

Hücre lizatlarında toplam protein miktar tayini için BCA (bicinchoninic acid) protein tayin kiti (Pierce BCA Protein Assay Kit) kullanıldı. Sığır serum albüminin 0, 0,125, 0,250, 0,500, 1 ve 2 µg/mL konsantrasyonları arasında standartlar oluşturuldu. Protein örneklerinden ve standartlardan 5 µL 96 kuyucuklu plate’e pipetlendi ve üzerine 200 µL BCA reaktifi (1/50, reaktif A/reaktif B) eklendikten sonra 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda optik yoğunluk spektrofotometre ile 562 nm dalga boyunda ölçüldü. Örneklerin protein miktarları BCA standart doğrusu kullanılarak hesaplandı.

3.5.3. Poliakrilamid Jel Elektroföze

Western Blot deneyi Biorad Tetra Cell Miniprotean cihazında yapılmıştır. Çalışmamızda araştırılan bütün proteinler için ayırıcı jel %10’luk ve paketleyici jel %5’lik oranlarında hazırlandı. Jel kuyucuklarına her bir kuyucukta 30 µg protein olacak şekilde yükleme yapıldı. Proteinler yükleme tamponunda 5 dakika 95°C’de inkübe edildikten sonra yüklendi. Jel öncelikli olarak proteinlerin paketleyici jelden tamamen çıkış zamanına kadar 150 V’da sürüklendi ve daha sonra ayırıcı jel içerisinde elektroföze 200 V ile devam edildi.

3.5.4. Proteinlerin Membrana Transferi

Elektroforez sonrası jel örneklerinde molekül ağırlığına göre ayrıştırılan proteinler PVDF membrana transfer edildi. Transfer şartları 250 mA 90 dakika olarak belirlendi ve tüm deneylerde ıslak transfer işlemi gerçekleştirildi.

3.5.5. Bloklama

Transfer sonrasında membranlar 1 saat boyunca %5 yağsız süt tozu (Sigma-Aldrich) içeren 10 mL TBST (TBS: 20mM Tris, 154 mM NaCl, TBST: % 0,1 Tween-20 içeren TBS) tampon içerisinde oda ısısında, dairesel karıştırıcıda çalkalanarak bloklandı. Bloklama sonrasında membranlar TBST çözeltisi ile 3 kez 10'ar dakika süre ile yıkandı böylece süt tozu ortamdan uzaklaştırıldı.

3.5.6. Primer Antikor İle İnkübasyon

Tavşan Anti-Fosfo-Kaspaz-9 (Thr125), tavşan Anti-Fosfo-Kaspaz-9 (Ser196), fare Anti-AKT, fare Anti-Fosfo-AKT (Ser473), tavşan Anti-ERK1/2, tavşan Anti Fosfo-ERK1/2 (Thr202/Tyr204), tavşan Anti-P38, tavşan Anti-Fosfo-P38 (Thr180/Tyr182), tavşan Anti-GAPDH primer antikorları uygun dilüsyon oranlarına göre TBST çözeltisi içerisinde hazırlandı. Hazırlanan primer antikor yıkaması tamamlanmış membranın üzerine eklenerek +4 °C'de dairesel çalkalayıcı üzerinde gece boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda membranlar 3 kez 10'ar dakika TBST çözeltisi ile yıkanmıştır.

3.5.7. Sekonder Antikor İle İnkübasyon

Primer antikorla uyumlu olacak şekilde uygun dilüsyon oranlarında TBST çözeltisi içerisinde hazırlanan sekonder antikorlar (Anti-Tavşan-HRP, Anti-Fare-HRP) membran üzerine eklenerek 2 saat boyunca oda sıcaklığında dairesel çalkalayıcıda inkübe edildi. Sürenin sonunda membranlar TBST çözeltisi ile 3 kez 10'ar dakika yıkandı.

3.5.8. Görüntüleme

Yıkama işleminin ardından kemilüminesans görüntüleme reaktifi (Thermo Scientific) solüsyon 1 (Luminol solüsyon çözeltisi) ve solüsyon 2 (Peroksit çözeltisi) 1:1

oranında karıştırılarak hazırlandı. Membran band görüntüleri BioRAD görüntüleme sistemi kullanılarak karanlık bir odada görüntülendi. Bant görüntüleri kaydedilerek Image J programı ile analiz edildi. Deneyin sonuçları house-keeping bir gen GAPDH ile normalizasyon yapılarak hesaplandı.

3.6. İstatistiksel Veri Analizi

Tüm istatistiksel analizler SigmaPlot 12.0 programı ile gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki değişimin student-t testi ile kıyaslaması yapıldı. 0,05'den küçük p değerleri anlamlı kabul edildi.



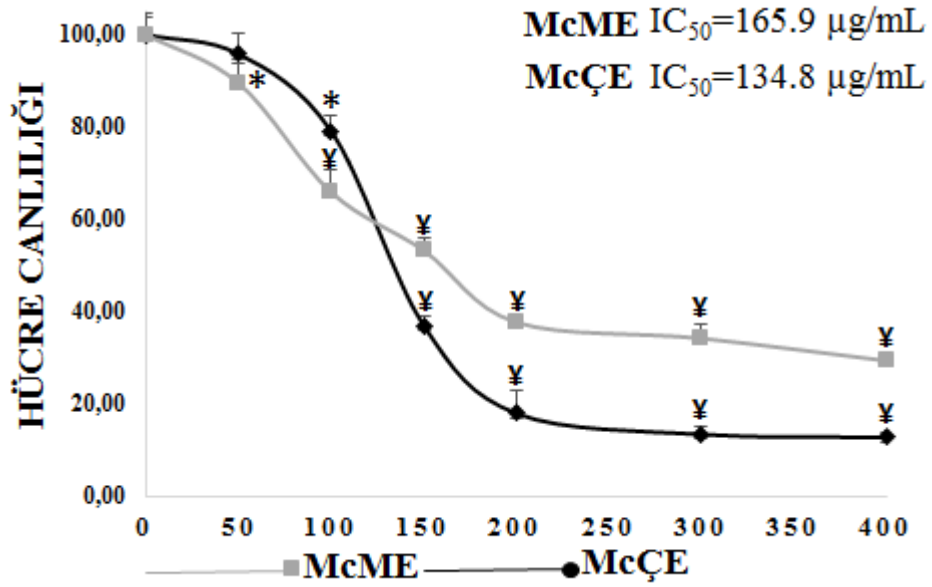
4. BULGULAR

4.1. *Momordica charantia* Meyve ve Çekirdek Ekstresinin RL95-2 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi.

17- β -östradiol ile uyarılan genomik olmayan östrojen reseptör sinyal yolağı kinazları ve kaspaz-9 fosforilasyonu üzerine McME ve McÇE'nin etkilerini belirlemek için öncelikle bu ekstrenin insan endometrium kanseri hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkisi test edildi. Bu kapsamda hücrelere 24 saat McME ve McÇE'nin değişen konsantrasyonları (0, 50, 100, 150, 200, 300, 400 $\mu\text{g/mL}$) uygulandı.

50 $\mu\text{g/mL}$ McME uygulanan hücrelerde hücre canlılığı %89,51 ($p<0,05$) olarak hesaplandı. McME'nin artan konsantrasyonları konsantrasyona bağımlı olarak (sırasıyla canlılık; 65,84%, 53,19%, 37,65%, 34,16%, 29,32%) hücre canlılığını anlamlı derecede ($p<0,01$) azaltmıştır. RL95-2 hücrelerinde 24 saat McME uygulaması sonrası IC_{50} değeri 165,9 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı (Şekil 4.1.).

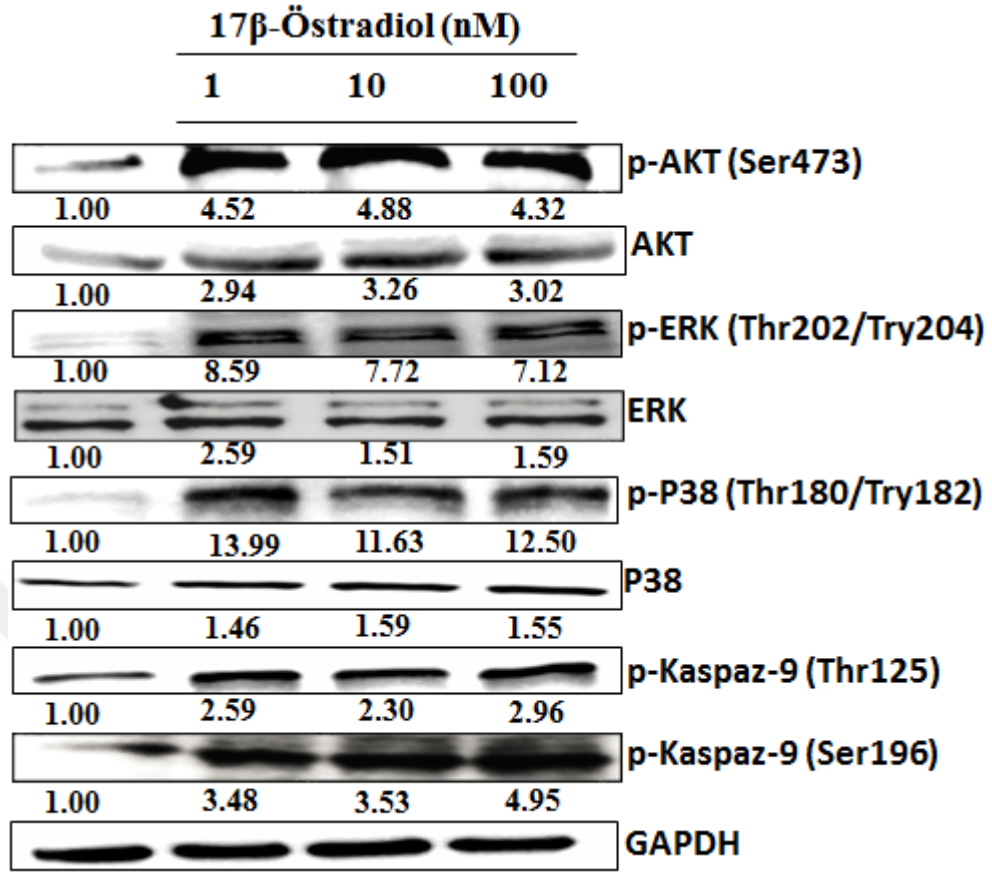
50 $\mu\text{g/mL}$ McÇE uygulanan hücrelerde hücre canlılığı azalmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). McÇE'nin artan konsantrasyonları konsantrasyona bağımlı olarak (sırasıyla canlılık; %79,08, %36,94, %17,91, %13,33, %12,69) hücre canlılığını anlamlı derecede ($p<0,01$) azaltmıştır. RL95-2 hücrelerinde 24 saat McÇE uygulaması sonrası IC_{50} değeri 134,8 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı (Şekil 4.1.). Aynı çalışmada pozitif kontrol olarak cisplatin'in sitotoksik etkisi test edilmiştir. RL95-2 hücrelerinde 24 saat cisplatin uygulaması sonrası IC_{50} değeri 19,0 $\mu\text{g/mL}$ olarak hesaplandı.



Şekil 4.1. *Momordica charantia* meyve (McME) ve çekirdek (McÇE) ekstresinin RL95-2 hücre canlılığı üzerine etkisi. n=4, *p<0,05, ¥p<0,01 kontrol grubu ile kıyaslandığında.

4.2. 17-β-östradiol'ün Uygulama Konsantrasyonu

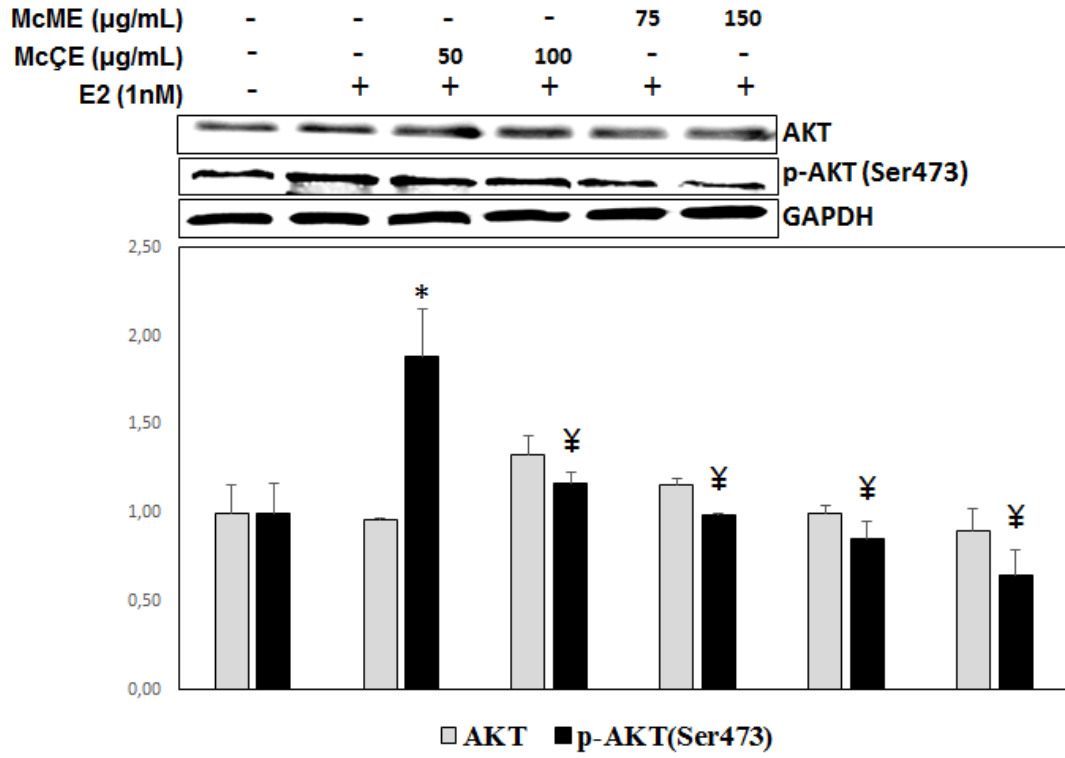
Endometriyum kanseri hücrelerinde, 17-β-östradiol'ün uygulama konsantrasyonunu belirlemek amacıyla bu hücrelerde, 17-β-östradiol'ün genomik olmayan östrojen reseptör sinyal yolu kinazları ve kaspaz-9 fosforilasyonunu uyardığı konsantrasyon belirlendi. Bu kapsamda hücrelere 15 dakika değişen (1, 10 ve 100 nM) konsantrasyonlarda 17-β-östradiol uygulandı. Çalışmamızın sonuçlarına göre 1, 10 ve 100 nM 17-β-östradiol'ün 15 dakika inkübasyonu AKT, P38, ERK gibi protein kinazların fosforilasyonunu ve aynı zamanda kaspaz-9'un gerek Treonin125 (Thr125)'den, gerekse Serin196 (Ser196)'dan fosfarilasyonunu anlamlı düzeyde artırmıştır (Şekil 4.2.). Bu sonuçlara göre daha sonraki deneylerde 17-β-östradiol'ün uygulama konsantrasyonu 1 nM olarak seçilmiştir.



Şekil 4.2. 17-β-östradiol'ün değişen konsantrasyonlarda genomik olmayan östrojen reseptör sinyal yolu protein kinazları ve kaspaz-9'un fosforilasyonu üzerine etkisi.

4.3. 17-β-östradiol İle Uyarılan Genomik Olmayan Östrojen Reseptör Sinyal İleti Kinazları Üzerine McME ve McÇE'nin Etkileri

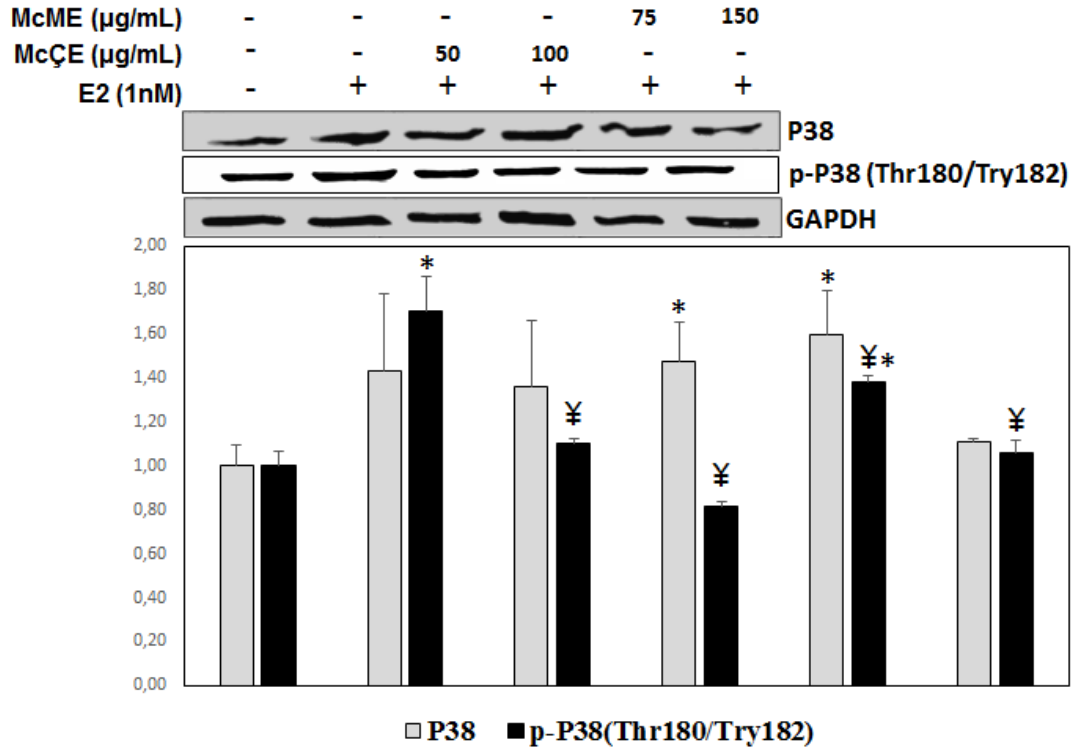
RL95-2 hücrelerinde 15 dakika 1 nM 17-β-östradiol uygulaması sonrasında genomik olmayan östrojen reseptör sinyal kinazı AKT'nin Serin473'den fosforilasyonu kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır. Bu durum endometrium kanseri hücrelerinde 17-β-östradiol ile AKT'nin aktive olduğunu göstermektedir. RL95-2 hücrelerinde McÇE 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda; McME ise 75 ve 150 µg/mL konsantrasyonlarda AKT'nin Ser473'den fosforilasyonunu anlamlı düzeyde baskılamıştır (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. 17- β -östradiol aracılı AKT aktivasyonu: *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresinin AKT aktivasyonunda düzenleyici etkisi.

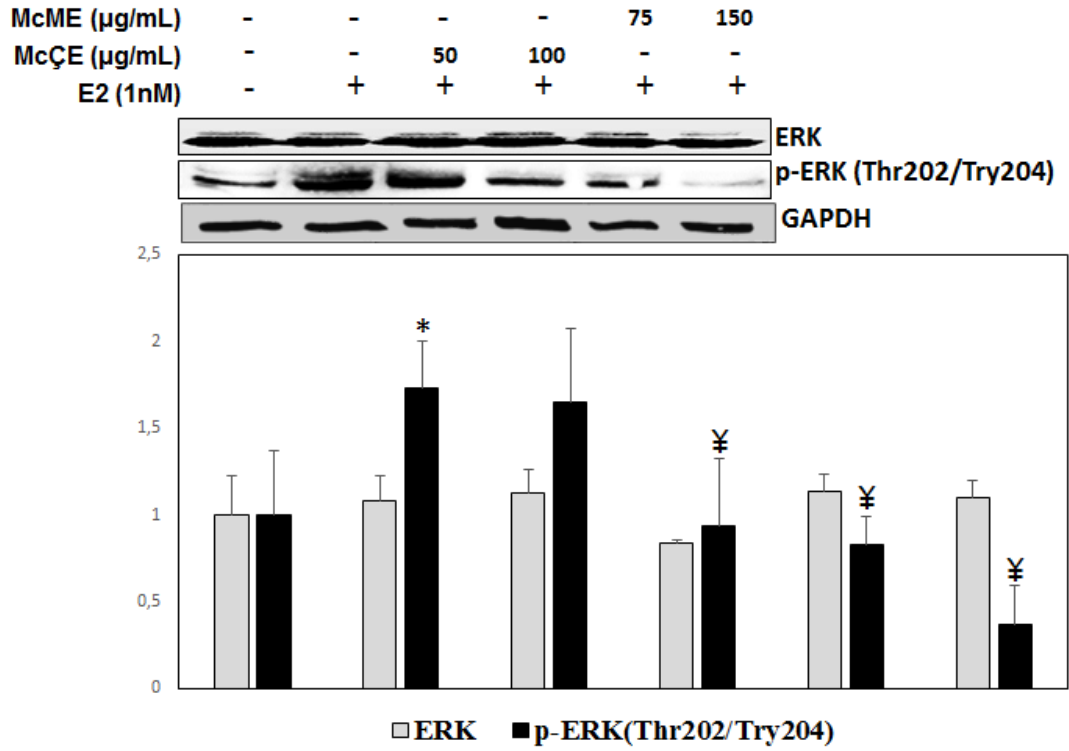
n=3, *p<0,05 vs. Kontrol grubu, #p<0,05 vs. 17- β -östradiol uygulanan grup.

RL95-2 hücrelerinde 15 dakika 1 nM 17- β -östradiol uygulaması sonrasında genomik olmayan östrojen reseptör sinyal kinazı P38'in Treonin180/Tirozin182'den fosforilasyonu kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır. Bu durum endometrium kanseri hücrelerinde P38'in 17- β -östradiol ile aktive olduğunu göstermektedir. RL95-2 hücrelerinde McÇE 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda; McME ise 75 ve 150 µg/mL konsantrasyonlarda P38'in Treonin180/Tirozin182'den fosforilasyonunu anlamlı düzeyde baskılamıştır (Şekil 4.4.).



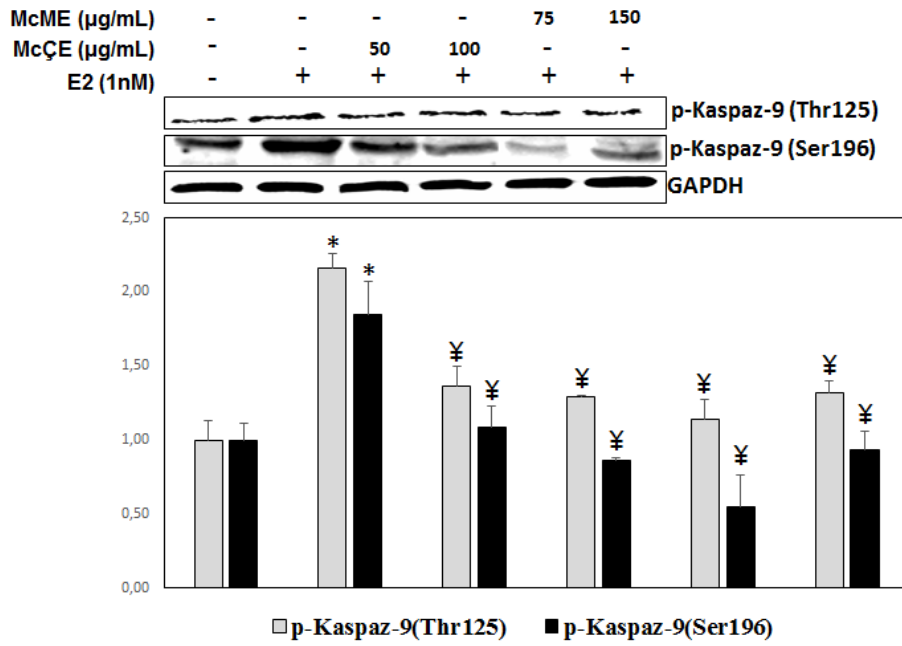
Şekil 4.4. 17-β-östradiol aracılı P38 aktivasyonu: *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresinin P38 aktivasyonunda düzenleyici etkisi. n=3, *p<0,05 vs. Kontrol grubu, #p<0,05 vs. 17-β-östradiol uygulanan grup.

RL95-2 hücrelerinde 15 dakika 1 nM 17-β-östradiol uygulaması sonrasında genomik olmayan östrojen reseptör sinyal kinazı ERK1/2'nin Treonin202/Tirozin204'den fosforilasyonu kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artmıştır. Bu durum endometrium kanseri hücrelerinde ERK1/2'nin 17-β-östradiol ile aktive olduğunu göstermektedir. RL95-2 hücrelerinde McÇE 100 µg/mL konsantrasyonda; McME ise 75 ve 150 µg/mL konsantrasyonlarda ERK1/2'nin Treonin202/Tirozin204'den fosforilasyonunu anlamlı düzeyde baskılamıştır ancak 50 µg/mL konsantrasyonda McÇE uygulaması sonrası ERK1/2'nin Treonin202/Tirozin204'den fosforilasyonundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. 17- β -östradiol aracılı ERK1/2 aktivasyonu: *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresinin ERK1/2 aktivasyonunda düzenleyici etkisi. n=3, *p<0,05 vs. Kontrol grubu, #p<0,05 vs. 17- β -östradiol uygulanan grup.

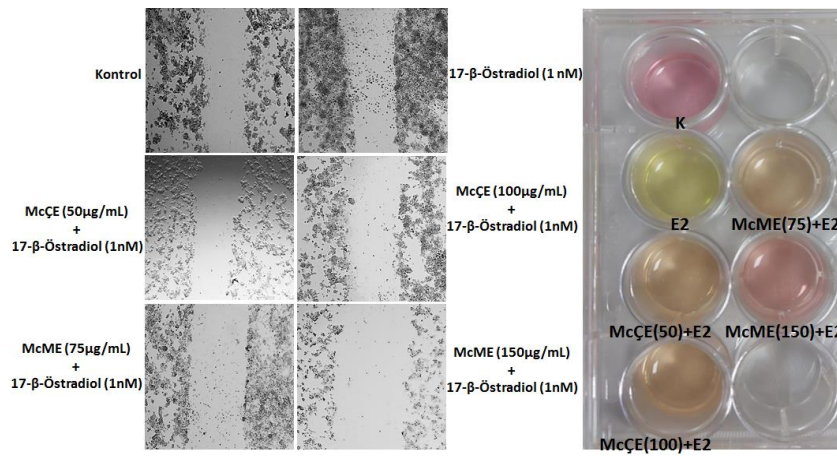
RL95-2 hücrelerinde 15 dakika 1 nM 17- β -östradiol uygulaması sonrasında kaspaz-9 Ser196 ve kaspaz-9 Thr125 fosforilasyonu anlamlı derecede artmıştır. Bu durum kaspaz-9'un endometrium kanseri hücrelerinde 17- β -östradiol ile baskılandığını göstermektedir. McÇE 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda; McME ise 75 ve 150 µg/mL konsantrasyonlarda kaspaz-9 Ser196 ve Thr125 fosforilasyonunu anlamlı düzeyde baskılamıştır (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. 17- β -östradiol aracılı kaspaz-9 fosforilasyonu: *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresinin kaspaz-9 fosforilasyonunda düzenleyici etkisi. n=3, *p<0,05 vs. Kontrol grubu, ¥p<0,05 vs. 17- β -östradiol uygulanan grup.

4.4. RL95-2 Hücre Migrasyonu Üzerine 17- β -östradiol ve *Momordica charantia* Çekirdek ve Meyve Ekstresinin Etkisi

RL95-2 hücrelerinde 15 dakika 1 nM 17- β -östradiol uygulaması, hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu artırmıştır. McÇE 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda; McME ise 75 ve 150 µg/mL konsantrasyonlarda hücrelerde hücre migrasyonunu ve proliferasyonunu baskılamıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. 17- β -östradiol ve *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresinin RL95-2 hücre migrasyonu üzerine etkisi.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Endometrium kanseri, dünya genelinde kadınlarda en sık görülen altıncı kanserdir ve görülme sıklığı giderek artmaktadır (Sung ve ark., 2021). Endometrial kanser histolojik ve moleküler özelliklere göre iki farklı tipte (Tip 1 ve Tip 2 endometrial kanser) sınıflandırılmıştır (Bokhman, 1983). Tip I endometrial kanserler vakaların %80'ini oluşturmaktadır, daha az agresif olarak kabul edilirler ve genellikle yüksek düzeyde ER α eksprese eder (Zhang ve ark., 2015). Endometrial kanser gelişimi için en önemli risk faktörleri eksojen veya endojen östrojen maruziyeti ile ilişkilidir (Allen ve ark., 2010; Kaaks ve ark., 2002). Östrojenler ER aracılığıyla endometrial epitelin çoğalmasını sağlayan mitojenik bir rol oynar. Karşılıksız östrojen, endometrial hiperplaziyi başlatarak endometrial kanser gelişmesine yol açabilir (Yang ve ark., 2011). 17- β -östradiol, kadınlarda serum ve doku östrojeninin yaygın formudur ve esas olarak endometriotik dokuda lokal olarak üretilir. Nükleer reseptör süper ailesine ait olan ER'ler, ER α ve ER β olmak üzere iki alt tiptedir ve birçok fizyolojik sürecin düzenlenmesinde rol oynayan transkripsiyon faktörleri olarak hareket ederler (Arnal ve ark., 2017; Jia ve ark., 2015). Östrojenler, saniiyeler veya dakikalar arasında hızlı sinyalleşmeyi aktive eden, G proteinleri ve IGF-1R, EGFR gibi büyüme faktörü reseptörleri ile kompleksler oluşturan ER'lerin genomik olmayan yolaklarını ve apoptotik kaskatın önlenmesinde rol oynayan MAPK/ERK ve PI3K/AKT sinyal iletim yolunu aktive ederek etkilerini gösterebilir (Arnal ve ark., 2017; Marino ve Ascenzi, 2008). Klasik olmayan bir ER olan GPER, ER α ve ER β 'dan bağımsız olarak gen ifadesini hızlı, no n-genomik bir şekilde değiştirebilir ve PI3K/AKT ve MAPK sinyal yollarının hızlı aktivasyonunu düzenleyebilir (Arnal ve ark., 2017; Samartzis ve ark., 2012). Böylece GPER'nin aktivasyonu hücre büyümesi, hücre göçü ve apoptotik hücre ölümünün düzenlenmesi ile sonuçlanır (Feldman ve Limbird, 2017). RL95-2 için GPER'nin östrojenin proliferatif ve

invaziv etkilerine aracılık etmede ve tümör oluşumunda önemli roller oynadığı gösterilmiştir. (He ve ark., 2012). Bir sistein proteaz ailesi olan kaspaz-9, apoptozun başlatıcısı olarak görev yapan sitoplazmik bir proteindir (Shi, 2002). Kaspaz-9'un ERK1/2 tarafından Thr125'te fosforilasyonu, kaspaz-9 aktivasyonunu bloke eder ve kaspaz-9'un ERK aracılı fosforilasyonunun ardından inhibisyonu, hücrenin hayatta kalmasını destekleyerek apoptozu inhibe eder (Allan ve ark., 2003). Kaspaz-9'un, bir diğer fosforilasyon bölgesi olan Ser196'da AKT tarafından fosforilasyonu ile inaktive edildiği bildirilmiştir (Cardone ve ark., 1998). Bu sonuçlar, kanser hücre döngüsü ilerlemesinin durdurulması ve apoptozun indüklenmesi için MAPK/ERK ve PI3K/AKT yollarının inhibisyonunun terapötik potansiyelinin in vivo ve in vitro olarak incelenmesini teşvik etmiştir (Streuli ve ark., 2012).

Geleneksel kanser tedavisinin doğal ürünlerle desteklenmesi, ER sinyalleme sisteminin modülasyonu yoluyla kaspazları dolaylı olarak etkileyerek kanser hücrelerini apoptoza götürmede ve kanser ilerlemesi ve gelişimi üzerinde etkili olabilir. Bu çalışmada McÇE ve McME östrojen reseptörü pozitif endometrium kanseri hücrelerinin büyümesini ve 17- β -östradiol ile indüklenen migrasyonunu inhibe etmiştir. McÇE ve McME, 17- β -östradiol ile aktive olan non-genomik östrojen reseptörü sinyal kinaslarını ve kaspaz-9 fosforilasyonunu inhibe ederek sitotoksik etki göstermiştir. *Momordica charantia* ekstrelerinin ve biyoaktif bileşenlerinin çeşitli kanser türlerine karşı kanser önleyici ve tedavi edici etkinliği laboratuvar kanser hücre hattı tabanlı modellerde ve klinik öncesi hayvan modellerinde değerlendirilmiştir. Ishikawa H hücreleri (endometrium kanser hücreleri) üzerinde yapılan bir çalışmada *Momordica charantia* proteini (MCP30) ile tedavinin zamana ve konsantrasyona bağlı bir şekilde hücre proliferasyonunu azalttığı ve Ishikawa H hücrelerinde AKT sinyal yolu yoluyla apoptozu indüklediği görülmüştür (Gu ve ark., 2017).

Momordica charantia ekstreleri sadece endometrium kanserinde değil, diğer birçok kanser hücrelerinde antiproliferatif etki göstermiştir. Yapılan bir çalışmada *Momordica charantia* tohumu ve arıl ekstrelerinin meme kanseri MCF-7 ve MDA MB-231 hücrelerinde EGFR sinyalinin aşağı akış hedefi olarak PI3K/AKT ve MAPK yollarının fosforilasyonunu inhibe ederek hücre büyümesini engellediği ve kaspaz-9 ve kaspaz-3 mRNA seviyelerinin yukarı regülasyonu yoluyla apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Basaran ve ark., 2020). Yapılan bir diğer çalışmada insan androjen

reseptörü pozitif prostat kanseri LNCaP hücrelerinde *Momordica charantia* çekirdek ekstresinin IC₅₀ değeri 36,3 µg/mL olarak belirlenmiştir ve LNCaP hücrelerinin *Momordica charantia* çekirdek ekstresi ile tedavisinin ERK1/2 ve AKT aktivasyonunu ve kaspaz-9'un fosforilasyonunu azaltarak hücre büyümesini ve DHT kaynaklı hücre göçünü bloke ettiği bulunmuştur (Asta ve ark., 2023). Yapılan bir çalışmada *Momordica charantia* ekstresi adrenokortikal kanser hücre hatlarında hücre büyümesini ve hücre döngüsü regülasyonunu inhibe etmiştir ve *Momordica charantia* ekstresinin IGF-1R seviyesinin ve bunun aşağı akış sinyali olan AKT fosforilasyonunun önemli ölçüde azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir (Brennan ve ark., 2012). Yapılan bir diğer çalışmada *Momordica charantia* suyunun AKT ve ERK1/2 fosforilasyonunu ve gempitabine dirençli pankreas kanseri hücrelerinin canlılığını azaltmada etkili olduğu bulunmuştur (Somasagara ve ark., 2015). Daha önce yapılan bir çalışmada *Momordica charantia* meyve ekstresi, 700 µg/mL IC₅₀ değeri ile U87G glioblastoma hücrelerinde proliferasyonu ve migrasyon yeteneğini azaltarak sitotoksik bir rol sergilediği gösterilmiştir (Erdogan ve Eroglu, 2022). Ayrıca *Momordica charantia*'nın çeşitli ekstraktlarının ve biyoaktif bileşiklerinin pankreas (Kandhari ve ark., 2021), baş ve boyun (Sur ve ark., 2021), karaciğer (Zhou ve ark., 2024), yumurtalık (Chan ve ark., 2020), akciğer (Thiagarajan ve ark., 2019), kolon (Yulianti ve ark., 2020), mide (Li ve ark., 2012), ağız (Rao, 2018), cilt (Park ve ark., 2019) kanserlerinin in vitro ve in vivo deneysel modellerinde antikanser etkileri olduğu gösterilmiştir.

Kaspaz-9'un Thr125 ve Ser196'da fosforilasyonu, ERK MAPK ve AKT'nin aktivasyonunu sağlayan sağ kalım sinyallerinin apoptozu sınırlandırabileceği ve tümör oluşumuna katkıda bulunabileceği önemli bir mekanizma olmuştur (Allan ve ark., 2003). Önceki çalışmamızda östrojen reseptörü pozitif MCF-7 hücrelerinde *Momordica charantia* çekirdek ekstresi kaspaz-9 fosforilasyonunu ve onun yukarı akış kinazlarını baskılayarak hücre büyümesini ve 17-β-östradiol ile indüklenen hücre göçünü bloke etmiştir (Çınar ve Cumaoglu, 2023). Daha önce yapılan bir çalışmada ise G1 endometrial kanserde fosforile AKT'nin E2/ER-α sinyal yolu tarafından çekirdeğe translokasyonunun sağlanmasıyla endometrial karsinoma hücrelerinin apoptozunun inhibe edildiği gösterilmiştir (Abe ve ark., 2011). Hücrel yıkımın başlatılması, kaspaz-9'un aktivasyonu ile mümkündür. ERK ve AKT

kinazlarının aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla kaspaz-9 fosforilasyonunun önlenmesi, kanser hücrelerinde apoptoza karşı direncin ortadan kaldırılmasında rol oynamaktadır. Bu çalışmada McÇE ve McME, RL95-2 hücrelerinde 17- β -östradiol tarafından indüklenen kaspaz-9 fosforilasyonunu azaltmıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada RL95-2 hücrelerinde 17- β -östradiol, genomik olmayan östrojen reseptör sinyal kinazlarını ve kaspaz-9 fosforilasyonunu uyararak apoptozu baskılamıştır. *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresi, RL95-2 hücrelerinde genomik olmayan östrojen reseptör sinyal kinazlarının aktivasyonunu ve kaspaz-9 fosforilasyonunu baskılayarak 17- β -östradiol tarafından uyarılan hücre proliferasyonunun inhibe edilmesinde etkili olmuş ve hücre migrasyonunu azaltmıştır. *Momordica charantia* çekirdek ve meyve ekstresinin endometrium kanseri hücresinde antiproliferatif etki göstermesinden yola çıkarak, yüksek östrojene maruz kalma sonucu gelişen endometrium kanserinden korunmada *Momordica charantia*'nın terapötik öneminin olabileceği sonucuna varılmıştır ve bu konuda daha fazla çalışmalar yapılmasının yararlı olabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Aaltonen MH, Staff S, Mecklin J-P, Pylvänäinen K, Mäenpää JU. Comparison of lifestyle, hormonal and medical factors in women with sporadic and lynch syndrome-associated endometrial cancer: a retrospective case-case study. *Mol Clin Oncol*, 2017; 6(5); 758-764.
- Abe N, Watanabe J, Tsunoda S, Kuramoto H, Okayasu I. Significance of nuclear p-Akt in endometrial carcinogenesis: rapid translocation of p-Akt into the nucleus by estrogen, possibly resulting in inhibition of apoptosis. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 2011; 21(2); 194-202.
- Acconcia F, Kumar R. Signaling regulation of genomic and nongenomic functions of estrogen receptors. *Cancer Lett*, 2006; 238(1); 1-14
- Adult Treatment Editorial Board. PDQ Endometrial Cancer Treatment. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Erişim: [\[https://www.cancer.gov/types/uterine/hp/endometrial-treatment-pdq\]](https://www.cancer.gov/types/uterine/hp/endometrial-treatment-pdq), Erişim Tarihi: 22.11.2023.
- Alexander SP, Mathie A, Peters JA. Guide to receptors and channels (GRAC), 5th edition. *Br J Pharmacol*, 2011; 164: S1-S2.
- Allan LA, Clarke PR. Apoptosis and autophagy: Regulation of caspase-9 by phosphorylation. *The FEBS Journal*, 2009; 276(21); 6063-6073.
- Allan LA, Morrice N, Brady S, Magee G, Pathak S, and Clarke PR. Inhibition of caspase-9 through phosphorylation at Thr 125 by ERK MAPK. *Nat. Cell Biol*, 2003; 5: 647-654.
- Allen NE, Tsilidis KK, Key TJ, Dossus L, Kaaks R, Lund E, et al. Menopausal hormone therapy and risk of endometrial carcinoma among postmenopausal women in the European prospective investigation into cancer and nutrition. *Am J Epidemiol*, 2010; 172: 1394-403.
- Almey A, Milner TA, Brake W. Estrogen receptors in the central nervous system and their implication for dopamine-dependent cognition in females. *Horm Behav*, 2015; 74: 125-138.
- AlZaabi A, AlAmri H, ALAjmi G, Allawati M, Muhanna F, Alabri R, AlBusaidi F, AlGhafri S, Al-Mirza AA, Al Baimani K. Endometrial surveillance in tamoxifen and letrozole treated breast cancer patients. *Cureus*, 2021; 13(11); e20030.
- American Cancer Society. Cancer Facts ve Figures 2018. Erişim: [\[https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2018.html\]](https://www.cancer.org/research/cancer-facts-statistics/all-cancer-facts-figures/cancer-facts-figures-2018.html), Erişim Tarihi: 22.11.2023.

- American Cancer Society. Key Statistics for endometrial cancer. Erişim: [\[https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/about/key-statistics.html\]](https://www.cancer.org/cancer/endometrial-cancer/about/key-statistics.html), Erişim Tarihi: 22.11.2023.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Committee Opinion No. 601: tamoxifen and uterine cancer. *Obstet Gynecol*, 2014; 123: 1394-1397.
- American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice Bulletin No. 149: Endometrial cancer. *Obstet Gynecol*, 2015; 125(4); 1006-1026.
- Arao Y, Korach KS. The physiological role of estrogen receptor functional domains. *Essays Biochem*, 2021; 65: 867-875.
- Arao Y, Korach KS. Transactivation Function-1-mediated partial agonist activity of selective estrogen receptor modulator requires homo-dimerization of the estrogen receptor alpha ligand binding domain. *Int J Mol Sci*, 2019; 20: 3718.
- Arbiser JL, Bonner MY, Gilbert LC. Targeting the duality of cancer. *NPJ Precis Oncol*, 2017; 1: 23.
- Arnal JF, Lenfant F, Metivier R, Flouriot G, Henrion D, Adlanmerini M, Fontaine C, Gourdy P, Chambon P, Katzenellenbogen B, Katzenellenbogen J. Membrane and nuclear estrogen receptor alpha actions: from tissue specificity to medical implications. *Physiol Rev*, 2017; 97: 1045-1087.
- Aronica SM, Kraus WL, Katzenellenbogen BS. Estrogen action via the cAMP signaling pathway: Stimulation of adenylate cyclase and cAMP-regulated gene transcription. *Proc Natl Acad Sci U.S.A*, 1994; 91: 8517-21.
- Aslim HP, Bulut O. Western Blot. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 2021; 6(1); 45-56.
- Asta C, Pasayeva L, Imamoglu, N and Cumaoglu A. Momordica charantia inhibits prostate cancer cell proliferation by suppressing dihydrotestosterone-induced caspase-9 phosphorylation. *Iran J Sci*, 2023; 47: 1487-1496.
- Barakat RR, Berchuck A, Markman M, Randall ME. Principles and practice of gynecologic oncology: Sixth edition. 2013; p.: 1-1104.
- Barton M, Filardo EJ, Lolait SJ, Thomas P, Maggiolini M, Prossnitz ER. Twenty years of the G protein-coupled estrogen receptor GPER: Historical and personal perspectives. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2018; 176: 4-15.
- Basaran GS, Bekci H, Baldemir A, Ilgun S, and Cumaoglu A. Momordica charantia seed and aryl extracts potentiate growth inhibition and apoptosis by dual blocking of PI3K/AKT and MAPK pathways as a downstream target of EGFR signaling in breast cancer cells. *Current Nutrition ve Food Science*, 2020; 16(5); 726-733.
- Batran SAESE, El-Gengaihi SE, El-Shabrawy OA. Some toxicological studies of Momordica charantia, L. on albino rats in normal and alloxan diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 2006; 108(2); 236-242.
- Beato M. Gene regulation by steroid hormones. *Cell*, 1989; 56(3); 335-44.

- Björnström L, Sjöberg M. Mechanisms of estrogen receptor signaling: convergence of genomic and nongenomic actions on target genes. *Mol Endocrinol* 2005; 19(4): 833-842.
- Bokhman JV. Two pathogenetic types of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol*, 1983; 15(1); 10-17.
- Boonyaratankornkit V, Edwards DP. Receptor mechanisms mediating non-genomic actions of sex steroids. *Semin Reprod Med*, 2007; 25: 139-153.
- Boruta DM 2nd,, Gehrig PA, Fader AN, Olawaiye AB. Management of women with uterine papillary serous cancer: a Society of Gynecologic Oncology (SGO) review. *Gynecol Oncol*, 2009; 115(1); 142-153.
- Bouricha EM, Hakmi M, Akachar J, Zouaidia F, Ibrahimi A. In-silico identification of potential inhibitors targeting the DNA binding domain of estrogen receptor alpha for the treatment of hormone therapy-resistant breast cancer. *J Biomol Struct Dyn*, 2020; 40(11); 5203-5210.
- Božović A, Mandušić V, Todorović L, Krajnović M. Estrogen receptor Beta: The promising biomarker and potential target in metastases. *Int J Mol Sci*, 2021; 22(4); 1656.
- Brennan VC, Wang CM, Yang WH. Bitter melon (*Momordica charantia*) extract suppresses adrenocortical cancer cell proliferation through modulation of the apoptotic pathway, steroidogenesis, and insulin-like growth factor type 1 receptor/RAC- α serine/threonine-protein kinase signaling. *Journal of Medicinal Food*, 2012; 15(4); 325-334.
- Burke WM, Orr J, Leitao M, Salom E, Gehrig P, Olawaiye AB, Brewer M, Boruta D, Villella J, Herzog T, Shahin FA. Endometrial cancer: a review and current management strategies: part I. *Gynecol Oncol*, 2014; 134(2): 385-392.
- Cardone MH, Roy N, Stennicke HR, Salvesen GS, Franke TF, Stanbridge E, Frisch S, Reed JC. Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation. *Science*, 1998; 282(5392); 1318-1321.
- Carmeci C, Thompson DA, Ring HZ, Francke U, Weigel RJ. Identification of a gene (GPR30) with homology to the G-protein-coupled receptor superfamily associated with estrogen receptor expression in breast cancer. *Genomics*, 1997; 45(3); 607-617.
- Ceviz AB, Aydoğan HY. “Western Blot” Analizi ve Kullanım Alanları. *ÜCD Güncelleme Serileri*, 2020; 9(2); 29-35.
- Chan DW, Yung MM, Chan YS, Xuan Y, Yang H, Xu D, Zhan JB, Chan KK, Ng TB, Ngan HY. MAP30 protein from *Momordica charantia* is therapeutic and has synergic activity with cisplatin against ovarian cancer in vivo by altering metabolism and inducing ferroptosis. *Pharmacol Res*, 2020; 161: 105157.
- Çınar H, Cumaoğlu A. *Momordica charantia* seed extract inhibits breast cancer cell proliferation and migration by suppressing the activation of non-genomic estrogen receptor signaling kinases and caspase-9 phosphorylation. *Current Topics in Phytochemistry*, 2023; 19: 25-33.

- Critchley HOD, Saunders PTK. Hormone Receptor Dynamics in a Receptive Human Endometrium. *Reprod Sci*, 2009; 16: 191-199.
- Dandawate PR, Subramaniam D, Padhye SB, Anant S. Bitter melon: A panacea for inflammation and cancer. *Chin J Nat Med*, 2016; 14(2); 81-100.
- Deng Y, Jin H. Effects of menopausal hormone therapy-based on the role of estrogens, progestogens, and their metabolites in proliferation of breast cancer cells. *Cancer Biol Med*, 2022; 19(4); 432-449.
- Deveraux QL, Takahashi R, Salvesen GS Reed JC. X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature*, 1997; 388(6639); 300-304.
- Eckelman BP, Salvesen GS, Scott FL. Human inhibitor of apoptosis proteins: why XIAP is the black sheep of the family. *EMBO Rep*, 2006; 7(10); 988-994.
- Engelsen IB, Stefansson IM, Akslen LA, Salvesen HB. GATA3 expression in estrogen receptor alpha-negative endometrial carcinomas identifies aggressive tumors with high proliferation and poor patient survival. *Am J Obstet Gynecol*, 2008; 199(5); 543.e1-543.e7.
- Enmark E, Peltö-Huikko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, Fried G, Nordenskjöld M, Gustafsson JA. Human estrogen receptor β -gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82(12); 4258-4265.
- Erdogan K, Eroglu O. The extract of momordica charantia inhibits cell proliferation and migration in U87G cells. *Biol Bull Russ Acad Sci*, 2022; 49: 31-38.
- Erkekoğlu P, Baydar T. Güncel In Vitro Sitotoksikite Testleri. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 2021; 41(1); 45-63.
- Fagan DH, Yee D. Crosstalk between IGF1R and estrogen receptor signaling in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2008; 13(4); 423-429.
- Faltas CL, LeBron KA, Holz MK. Unconventional estrogen signaling in health and disease. *Endocrinology*, 2020; 161(4); 1-7.
- Fang EF, Froetscher L, Scheibye-Knudsen M, Bohr VA, Wong JH, Ng TB. Emerging antitumor activities of the bitter melon (*Momordica charantia*) curr. *Protein Pept Sci*, 2019; 20(3); 296-301.
- Feldman RD, Limbird LE. GPER (GPR30): a nongenomic receptor (GPCR) for steroid hormones with implications for cardiovascular disease and cancer. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 2017; 57: 567-584.
- Felty Q, Roy D. Estrogen, mitochondria and growth of cancer and non-cancer cells. *J Carcinog*, 2005; 4(1); 1.
- Filardo EJ, Thomas P. GPR30: A seven-transmembrane-spanning estrogen receptor that triggers EGF release. *Trends Endocrinol Metab*, 2005; 16(8); 362-367.
- Flasch M, Bueschl C, Del Favero G, Adam G, Schuhmacher R, Marko D, Warth B. Elucidation of xenoestrogen metabolism by non-targeted, stable isotope-assisted mass spectrometry in breast cancer cells. *Environ Int*, 2022; 158: 106940.

- Fuentes N, Silveyra P. Estrogen receptor signaling mechanisms. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2019; 116: 135-170.
- Fujiwara S, Terai Y, Kawaguchi H, Takai M, Yoo S, Tanaka Y, Tanaka T, Tsunetoh S, Sasaki H, Kanemura M, Tanabe A, Yamashita Y, Ohmichi M. GPR30 regulates the EGFR-Akt cascade and predicts lower survival in patients with ovarian cancer. *J Ovarian Res*, 2012; 5(1); 35.
- Ge X, Guo R, Qiao Y, Zhang Y, Lei J, Wang X, Li L, Hu D. The G protein-coupled receptor GPR30 mediates the nontranscriptional effect of estrogen on the activation of PI3K/Akt pathway in endometrial cancer cells. *Intl J Gynecological Cancer*, 2013; 23: 52-59.
- Glinsky GV, Glinsky VV. Apoptosis and metastasis: a superior resistance of metastatic cancer cells to programmed cell death. *Cancer letters*, 1996; 101(1); 43-51.
- Gosden JR, Middleton PG, Rout D. Localization of the human oestrogen receptor gene to chromosome 6q24--q27 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet*, 1986; 43(3-4); 218-220.
- Gu HZ, Lin RR, Wang HC, Zhu XJ, Hu Y, Zheng FY. Effect of Momordica charantia protein on proliferation, apoptosis and the AKT signal transduction pathway in the human endometrial carcinoma Ishikawa H cell line in vitro. *Oncol Lett*, 2017; 13(5); 3032-3038.
- Gullo G, Etrusco A, Cucinella G, Perino A, Chiantera V, Laganà AS, Tomaiuolo R, Vitagliano A, Giampaolino P, Noventa M, Andrisani A, Buzzaccarini G. Fertility-sparing approach in women affected by stage I and low-grade endometrial carcinoma: An updated overview. *Int J Mol Sci*, 2021; 22(21); 11825.
- Hao J, Bao X, Jin B, Wang X, Mao Z, Li X, Wei L, Shen D, Wang JL. Ca²⁺ channel subunit α 1D promotes proliferation and migration of endometrial cancer cells mediated by 17 β -estradiol via the G protein-coupled estrogen receptor. *The FASEB Journal*, 2015; 29(7); 2883-2893.
- Hassan M, Watari H, AbuAlmaaty A, Ohba Y, Sakuragi N. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. *BioMed Res Int*, 2014; 2014: 150845.
- He YY, Du GQ, Cai B, Yan Q, Zhou L, Chen XY, Lu W, Yan YX, Wan XP. Estrogenic transmembrane receptor of GPR30 mediates invasion and carcinogenesis by endometrial cancer cell line RL95-2. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2012; 138: 775-83.
- Jensen EV, Jacobson HI. Basic guides to the mechanism of estrogen action. *Recent Prog Horm Res*, 1962; 18(4); 387.
- Jia M, Dahlman-Wright K, Gustafsson J. Estrogen receptor alpha and beta in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2015; 29(4); 557-568.
- Jia S, Shen M, Zhang F, Xie J. Recent advances in momordica charantia: Functional components and biological activities. *Int J Mol Sci*, 2017; 18(12); 2555.

- Jongen V, Sluijmer AV, Heineman MJ. The postmenopausal ovary as an androgen-producing gland; hypothesis on the etiology of endometrial cancer. *Maturitas*, 2002; 43: 77-85.
- Kaaks R, Lukanova A, Kurzer MS. Obesity, endogenous hormones, and endometrial cancer risk: a synthetic review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2002; 11(12); 1531-1543.
- Kalesnykas G. Cholinergic Neurons of The Rodent Basal Forebrain and Their Content of Estrogen Receptor Alpha. Doctoral Dissertation, Department of Neurology, University of Kuopio, Finland 2005; p.: 32.
- Kandhari K, Paudel S, Raina K, Agarwal C, Kant R, Wempe MF, O'Bryant C, Agarwal R. Comparative pre-clinical efficacy of Chinese and Indian cultivars of bitter melon (*Momordica charantia*) against pancreatic cancer. *J Cancer Prev*, 2021; 26(4); 266-276.
- Koshiyama M, Konishi I, Fujii S. Pathology, hormonal aspects, and molecular genetics of the two types of endometrial cancer. *Cancer J France*, 1998; 11: 277-283.
- Koskas M, Amant F, Mirza MR, Creutzberg CL. Cancer of the corpus uteri: 2021 update. *Int J Gynecol Obstet*, 2021; 155: 45-60.
- Kuiper G, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci*, 1996; 93(12); 5925-5930.
- Kumar R, Zakharov MN, Khan SH, Miki R, Jang H, Toraldo G, Singh R, Bhasin S, Jasuja R. The dynamic structure of the estrogen receptor. *J Amino Acids*, 2011; 2011: 812540.
- Kumar RS, Goyal N. Estrogens as regulator of hematopoietic stem cell, immune cells and bone biology. *Life Sci*, 2021; 269: 119091.
- Kurman RJ, Canciani ML, Herrington CS, Young RH. WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs. (4nd ed). World Health Organization, Switzerland 2014; p.: 126-128.
- Lara-Castillo N. Estrogen signaling in bone. *Appl Sci Basel*, 2021; 11(10); 4439.
- Leitao MM, Barakat RR. Endometrial Cancer Prevention. In: *Fundamentals of Cancer Prevention*. Springer, Berlin Heidelberg 2014; p.: 593-611.
- Li X, Huang J, Yi P, Bambara RA, Hilf R, Muyan M. Single-chain estrogen receptors (ERs) reveal that the ERalpha/beta heterodimer emulates functions of the ERalpha dimer in genomic estrogen signaling pathways. *Mol Cell Biol*, 2004; 24(17); 7681-7694.
- Li XZ, Sui CY, Chen Q, Chen XP, Zhang H, Zhou XP. Upregulation of cell surface estrogen receptor alpha is associated with the mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase activity and promotes autophagy maturation. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015; 8(8); 8832-8841.
- Li Y, Yin L, Zheng L, Xu L, Xu Y, Zhao Y, Qi Y, Yao J, Han X, Liu K, Peng J. Application of high-speed counter-current chromatography coupled with a

- reverse micelle solvent system to separate three proteins from *Momordica charantia*. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012; 895-896: 77-82.
- Liu L, Zhao Y, Xie K, Sun X, Gao Y, Wang Z. Estrogen-induced nongenomic calcium signaling inhibits lipopolysaccharide-stimulated tumor necrosis factor α production in macrophages. *PLoS One*, 2013; 8(12); e83072.
- Lopez J, Tait SWG. Mitochondrial apoptosis: Killing cancer using the enemy within. *Br J Cancer*, 2015; 112(6); 957-962.
- Losel R, Wehling M. Nongenomic Actions of Steroid Hormones. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2003; 4(1); 46-56.
- Marino M, Ascenzi P. Membrane association of estrogen receptor alpha and beta influences 17beta-estradiol-mediated cancer cell proliferation. *Steroids*, 2008; 73(9-10); 853-858.
- Martin MC, Allan LA, Lickrish M, Sampson C, Morrice N and Clarke PR. Protein kinase A regulates caspase-9 activation by Apaf-1 downstream of cytochrome c. *J. Biol. Chem*, 2005; 280: 15449-15455.
- Migliaccio A, Di Domenico M, Castoria G, Nanayakkara M, Lombardi M, De Falco A, Bilancio A, Varricchio L, Ciociola A, Auricchio F. Steroid receptor regulation of epidermal growth factor signaling through Src in breast and prostate cancer cells: Steroid antagonist action. *Cancer Res*, 2005; 65: 10585-10593.
- Morice P, Leary A, Creutzberg C, Abu-Rustum N, Darai E. Endometrial cancer. *Lancet*, 2016; 387: 1094-1108.
- Morley P, Whitfield JF, Vanderhyden BC, Tsang BK, Schwartz J. A new, nongenomic estrogen action: the rapid release of intracellular calcium. *Endocrinology*, 1992; 131(3); 1305-1312.
- Musicco C, Cormio G, Pesce V, Loizzi V, Cicinelli E, Resta L, Ranieri G, Cormio A. Mitochondrial dysfunctions in type I endometrial carcinoma: Exploring their role in oncogenesis and tumor progression. *Int J Mol Sci*, 2018; 19: 2076.
- National Cancer Institute. Surveillance, Epidemiology, and End Results Program. Cancer stat facts: Uterine cancer. Erişim: [<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/corp.html>], Erişim Tarihi: 22.11.2023.
- O'Dowd BF, Nguyen T, Marchese A, Cheng R, Lynch KR, Heng HH, Kolakowski LF Jr, George SR. Discovery of three novel g-protein-coupled receptor genes. *Genomics*, 1998; 47(2); 310-313.
- Ohta K, Chiba Y, Kaise A, Endo Y. Structure-activity relationship study of diphenylamine-based estrogen receptor (ER) antagonists. *Bioorg Med Chem*, 2015; 23(4); 861-867.
- Park SH, Yi YS, Kim MY, Cho JY. Antioxidative and antimelanogenesis effect of *Momordica charantia* methanol extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019; 2019: 5091534.

- Prossnitz ER, Barton M. Estrogen biology: New insights into GPER function and clinical opportunities. *Mol Cell Endocrinol*, 2014; 389(1-2); 71-83.
- Prossnitz ER, Barton M. The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*, 2011; 7(12); 715-726.
- Prossnitz ER, Maggiolini M. Mechanisms of estrogen signaling and gene expression via GPR30. *Mol Cell Endocrinol*, 2009; 308(1-2); 32-38.
- Raina K, Kumar D, Agarwal R. Promise of bitter melon (*Momordica charantia*) bioactives in cancer prevention and therapy. *Semin Cancer Biol*, 2016; 40-41: 116-129.
- Raman A, Lau C. Anti-diabetic properties and phytochemistry of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae). *Phytomedicine*. 1996; 2(4); 349-62.
- Rao CV. Immunomodulatory effects of *Momordica charantia* extract in the prevention of oral cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2018; 11(4); 185-186.
- Rao J, Jiang X, Wang Y, Chen B. Advances in the understanding of the structure and function of ER-alpha 36, a novel variant of human estrogen receptor-alpha. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2011; 127: 231-237.
- Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science*, 2005; 307(5715); 1625-1630.
- Ruhs S, Nolze A, Hübschmann R, Grossmann C. Nongenomic effects via the mineralocorticoid receptor. *J Endocrinol*, 2017; 234(1); T107-T124.
- Russell JK, Jones CK, Newhouse PA. The role of estrogen in brain and cognitive aging. *Neurotherapeutics*, 2019; 16(3); 649-665.
- Saito A, Yoshida H, Nishikawa T, Yonemori K. Human epidermal growth factor receptor 2 targeted therapy in endometrial cancer: Clinical and pathological perspectives. *World J Clin Oncol*, 2021; 12(10); 868-881.
- Samartzis N, Samartzis EP, Noske A, Fedier A, Dedes KJ, Caduff R, Fink D, Imesch P. Expression of the G protein-coupled estrogen receptor (GPER) in endometriosis: A tissue microarray study. *Reprod Biol Endocrinol*, 2012; 10: 30.
- Schafer ZT, Kornbluth S. The apoptosome: physiological, developmental, and pathological modes of regulation. *Dev Cell*, 2006; 10(5); 549-561.
- Schwartz N, Verma A, Bivens CB, Schwartz Z, Boyan BD. Rapid steroid hormone actions via membrane receptors. *Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res*, 2016; 1863(9); 2289-2298.
- Semiz A, Sen A. Antioxidant and chemoprotective properties of *Momordica charantia* L. (bitter melon) fruit extract. *African journal of Biotechnology*, 2007; 6(3); 273-277.
- Sen A, De Castro I, Defranco DB, Deng FM, Melamed J, Kapur P, Raj GV, Rossi R, Hammes SR. Paxillin mediates extranuclear and intranuclear signaling in prostate cancer proliferation. *J Clin Invest*, 2012; 122(7); 2469-2481.

- Sen A, O'Malley K, Wang Z, Raj GV, Defranco DB, Hammes SR. Paxillin regulates androgen- and epidermal growth factor-induced MAPK signaling and cell proliferation in prostate cancer cells. *J Biol Chem*, 2010; 285(37); 28787-28795.
- Shi Y. Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. *Mol Cell*. 2002; 9(3); 459-470.
- Shiozaki EN, Shi Y. Caspases, IAPs and Smac/DIABLO: mechanisms from structural biology. *Trends Biochem. Sci*, 2004; 29(9); 486-494.
- Silva R de CP da C e, Moura KKV de O, Ribeiro Júnior CL, Guillo LA. Estrogen signaling in the proliferative endometrium: implications in endometriosis. *Rev Assoc Med Bras*, 2016; 62(1); 72–77.
- Skafar DF, Zhao C. The multifunctional estrogen receptor-alpha F domain. *Endocrine*, 2008; 33:1–8.
- Soltysik K, Czekaj P. Membrane estrogen receptors – is it an alternative way of estrogen action? *J Physiol Pharmacol*, 2013; 64(2); 129-142.
- Somasagara RR, Deep G, Shrotriya S, Patel M, Agarwal C, Agarwal R. Bitter melon juice targets molecular mechanisms underlying gemcitabine resistance in pancreatic cancer cells. *Int J Oncol*, 2015; 46(4); 1849-1857.
- Song RXD, McPherson RA, Adam L, Bao Y, Shupnik M, Kumar R, Santen RJ. Linkage of rapid estrogen action to MAPK activation by ERalpha-Shc association and Shc pathway activation. *Mol Endocrinol*, 2002; 16(1):116–127.
- Staff S, Aaltonen M, Huhtala H, Pylvänäinen K, Mecklin J-P, Mäenpää J. Endometrial cancer risk factors among Lynch syndrome women: a retrospective cohort study. *Br J Cancer*, 2016; 115(3); 375-381.
- Streuli I, de Ziegler D, Santulli P, Marcellin L, Borghese B, Batteux F, Chapron C. An update on the pharmacological management of endometriosis. *Expert Opin Pharmacother*. 2013; 14(3):291-305.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021; 71(3); 209-249.
- Sur S, Ray RB. Bitter Melon (*Momordica Charantia*), a nutraceutical approach for cancer prevention and therapy. *Cancers*, 2020; 12(8); 2064.
- Sur S, Steele R, Isbell TS, Venkata KN, Rateb ME, Ray RB. Momordicine-I, a bitter melon bioactive metabolite, displays anti-tumor activity in head and neck cancer involving c-Met and downstream signaling. *Cancers*, 2021; 13(6); 1432.
- Świtalska M, Strządała L. Niegenomowe działanie estrogenów. *Postępy Hig Med Dośw*, 2007; 61: 541-547.
- Tan DSP, Lambros MBK, Marchio C, Reis-Filho JS. ESR1 amplification in endometrial carcinomas: Hope or hyperbole? *J Pathol*, 2008; 216(3); 271-274.

- Tecalco-Cruz AC, Perez-Alvarado IA, Ramirez-Jarquin JO, Rocha-Zavaleta L. Nucleo-cytoplasmic transport of estrogen receptor alpha in breast cancer cells. *Cell Signal*, 2017; 34: 121-132.
- Thiagarajan S, Arapoc DJ, Husna SN, Keong YY, Bahari H, Adam Z, Ei T. *Momordica charantia* (Indian and Chinese Bitter Melon) extracts inducing apoptosis in human lung cancer cell line A549 via ROS-mediated mitochondria injury. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019; 2019: 2821597.
- Thomas P, Pang Y, Filardo EJ, Dong J. Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells. *Endocrinology*, 2005; 146(2); 624-632.
- Toran-Allerand CD, Guan X, MacLusky NJ, Horvath TL, Diano S, Singh M, Connolly ES Jr, Nethrapalli IS, Tinnikov AA. ER-X: a novel, plasma membrane-associated, putative estrogen receptor that is regulated during development and after ischemic brain injury. *J Neurosci*, 2002; 22(19); 8391-8401.
- Travaglini A, Raffone A, Mascolo M, Guida M, Insabato L, Zannoni GF, Zullo F. TCGA molecular subgroups in endometrial undifferentiated/dedifferentiated carcinoma. *Pathol Oncol Res*, 2020; 26(3); 1411-1416.
- Trenti A, Tedesco S, Boscaro C, Ferri N, Cignarella A, Trevisi L, Bolego C. The glycolytic enzyme PFKFB3 is involved in estrogen-mediated angiogenesis via GPER1. *J Pharmacol Exp Ther*, 2017; 361(3); 398-407.
- Ui H, Mueller GC. The Role Of RNA Synthesis In Early Estrogen Action. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1963; 50(2); 256-260.
- Urick ME, Bell DW. Clinical actionability of molecular targets in endometrial cancer. *Nat Rev Cancer*, 2019; 19(9); 510-521.
- Wang Z, Zhang X, Shen P, Loggie BW, Chang Y, Deuel TF. A variant of estrogen receptor- α , hER- α 36: transduction of estrogen- and antiestrogen-dependent membrane-initiated mitogenic signaling. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 2006; 103(24); 9063-9068.
- Wang Z, Zhang X, Shen P, Loggie BW, Chang Y, Deuel TF. Identification, cloning, and expression of human estrogen receptor- α 36, a novel variant of human estrogen receptor- α 66. *Biochem. Biophys Res Commun*, 2005; 336(4); 1023-1027.
- Wilkenfeld SR, Lin C, Frigo DE. Communication between genomic and non-genomic signaling events coordinate steroid hormone actions. *Steroids*, 2018; 133: 2-7.
- Xu W, Jing L, Wang Q, Lin C-C, Chen X, Diao J, Liu Y, Sun X. Bas-PGAM5L-Drp1 complex is required for intrinsic apoptosis execution. *Oncotarget*, 2015; 6(30); 30017-30034.
- Yang S, Thiel KW, Leslie KK. Progesterone: the ultimate endometrial tumor suppressor. *Trends Endocrinol Metab*, 2011; 22(4); 145-152.

- Youle RJ, Strasser A. The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008; 9(1); 47-59.
- Yulianti E, Sutyarso S, Busman H, Nurcahyani N, Wahyuningsih S. Extract Of Bitter Melon (*Momordica Charantia* L.) As A Cytotoxic And Anti Proliferaton Agent For Cells WiDr (Colon Cancer). In: Saefurrohman, Malim Muhammad, Heri Nurdyanto (eds), *AECon 2020: Proceedings of The 6th Asia-Pacific Education And Science Conference*, Purwokerto, Indonesia. 2020; p.:124.
- Zaman S, Wang R, Gandhi V. Targeting the apoptosis pathway in hematologic malignancies. *Leuk. Lymphoma*, 2014; 55(9); 1980-1992.
- Zhan Y, Wang J, Ma Y, Liu Z, Xu H, Lu S, Lu B. Serum insulin-like, growth factor binding protein-related protein 1(IGFBP-rP1) and endometrial cancer risk in Chinese women. *Int J Cancer*, 2013; 132(2); 411-416.
- Zhang Y, Zhao D, Gong C, Zhang F, He J, Zhang W, Zhao Y, Sun J. Prognostic role of hormone receptors in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Oncol*, 2015; 13: 208.
- Zhang Z, Qin P, Deng Y, Ma Z, Guo H, Guo H, Hou Y, Wang S, Zou W, Sun Y, Ma YL, Hou W. The novel estrogenic receptor GPR30 alleviates ischemic injury by inhibiting TLR4-mediated microglial inflammation. *J Neuroinflammation*, 2018; 15(1); 206.
- Zhao L, Brinton RD. Estrogen receptor alpha and beta differentially regulate intracellular Ca^{2+} dynamics leading to ERK phosphorylation and estrogen neuroprotection in hippocampal neurons. *Brain Res*, 2007; 1172: 48-59.
- Zhou Y, Shen J, Xia L, Wang Y. Estrogen mediated expression of nucleophosmin 1 in human endometrial carcinoma clinical stages through estrogen receptor-alpha signaling. *Cancer Cell International*, 2014; 14(1); 540.
- Zhou Y, Yang D, Qiang Z, Meng Y, Li R, Fan X, Zhao W, Meng Y. Ribosome-inactivating protein MAP30 isolated from *Momordica charantia* L. induces apoptosis in hepatocellular carcinoma cells. *Recent Patents On Anti-Cancer Drug Discovery*, 2024; 19(2); 223-232.
- Zwart W, de Leeuw R, Rondaij M, Neefjes J, Mancini MA, Michalides R. The hinge region of the human estrogen receptor determines functional synergy between AF-1 and AF-2 in the quantitative response to estradiol and tamoxifen. *J Cell Sci*, 2010; 123: 1253-1261.

EKLER

KUDRET NARI (*Momordica charantia*) ÇEKİRDEK VE MEYVE EKSTRESİNİN ÖSTROJENE DUYARLI ENDOMETRİUM KANSERİ HÜCRELERİNDE GENOMİK OLMAYAN ÖSTROJEN RESEPTÖR SİNYAL YOLAĞI ÜZERİNDEN ANTİPROLİFERATİF ETKİSİNİN

ORJİNALLİK RAPORU

%12	%10	%6	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr	%4
	İnternet Kaynağı	
2	dspace.balikesir.edu.tr	%2
	İnternet Kaynağı	
3	www.duvaryayinlari.com	%1
	İnternet Kaynağı	
4	tez.sdu.edu.tr	%1
	İnternet Kaynağı	
5	hdl.handle.net	%1
	İnternet Kaynağı	
6	Korkusuz, Gözde. "Betülinik Asitin Endometrial Kanser Hücrelerinde mTOR Yolağı Aracılı Olası Antikanser Etkilerinin Araştırılması", Balıkesir University (Turkey), 2024	<%1
	Yayın	
7	Mokhberioskouei, Ziba. "Hyaluronik Asit Ile Modifiye Edilmiş Kurkuminin Anti-kanser Etkilerinin Aydınlatılması", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023	<%1
	Yayın	
8	www.acarindex.com	<%1
	İnternet Kaynağı	

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı, Soyadı : Kardelen AZGIN

Uyruğu : Türkiye (TC)

Doğum Tarihi ve Yeri:

Medeni Durumu :

E-mail :

EĞİTİM

Lisans : Nuh Naci Yazgan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve
Diyetetik Bölümü (2016-2020)

Lise : Hidayet Aydoğan Anadolu Öğretmen Lisesi (2012-2016)