



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Yüksek Lisans Tezi

**KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİNDE ANKAFERD
HEMOSTATİN ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Zeliha KARADAĞ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoteknoloji Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mehmet R. TOPÇUL

Haziran, 2022

İSTANBUL

Bu çalışma, [20.05.2016] tarihinde aşağıdaki jüri tarafından [Biyoloji Anabilim Dalı],
[Biyoteknoloji Programında] [Yüksek Lisans tezi] olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

[Doç. Dr.] [Mehmet R. TOPÇUL] (Danışman)
[Fen Fakültesi]

[Prof. Dr.] [Mahmut ÇALIŞKAN]
[İstanbul Üniversitesi]
[Fen Fakültesi]

[Dr. Öğr. Üyesi] [Suna ÖZBAŞ]
[Marmara Üniversitesi]
[Eczacılık Fakültesi]

İntihal Programı Beyanı

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2022-38500 numaralı projesi ile desteklenmiştir. |

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

--

ÖNSÖZ

İstanbul Üniversitesi gibi büyük ve köklü bir kurumda Biyoteknoloji Yüksek Lisansını ilk tamamlayan öğrenci olmanın sorumluluğu, bilinci ve de gururunu taşımaktayım.

Tez çalışmam sırasında İleri Kanser ve İlaç Biyoteknolojileri Araştırma Laboratuvarları olanaklarından faydalanmam konusunda desteklerini esirgemeyen ve bu zorlu süreçte bilgi ve deneyimleri ile beni aydınlatan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum Değerli Hocam **Doç. Dr. Mehmet R. TOPÇUL**'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmalarım sırasında, bilgi ve deneyimleri ile bana her konuda ışık tutan, sonsuz sabrı, ilgisi ve desteği ile her zaman yanımda olan, öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum Değerli Hocam **Dr. Öğr. Üyesi İdil ÇETİN**'e en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez çalışmam sırasında kullanmış olduğum Ankaferd Hemostat'ın bana temin edilmesine yardımcı olan And İlaç **Genel Müdürü Sayın Vedat FIRAT**'a teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu süreçte her daim yanımda olan, bugünlere gelmemde çok büyük emeği geçen anneme, babama, eşime, kızıma, kardeşime ve abime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Haziran 2022

[Zeliha KARADAĞ]

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1 KANSERİN TARİHÇESİ.....	4
2.2 KANSER.....	6
2.2.1 Tümör Biyolojisi.....	7
2.2.2 Tümörlerin Sınıflandırılması.....	7
2.2.2.1 Tümörler Köken Aldıkları Hücre Tipine Göre Sınıflandırılması.....	7
2.2.2.2 Dereceye göre sınıflandırma.....	8
2.2.3 Kanserin Ayırt Edici Özellikleri.....	8
2.3 AKCİĞER ANATOMİSİ.....	12
2.4 AKCİĞER KANSERİ.....	13
2.4.1 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri.....	16
2.4.2 Akciğer Kanseri Etiyolojisi.....	16
2.4.2.1. Tütün Kullanımı.....	16
2.4.2.2. Hava Kirliliği.....	16
2.4.2.3. Radon.....	17
2.4.2.4. Mesleki Maruziyet.....	17
2.4.2.5. Genetik Faktörler.....	18
2.4.2.6. Radyasyon.....	18
2.4.2.7. Diyet.....	18
2.4.2.8. Diğerleri.....	18
2.4.3 Akciğer Kanseri Tedavi Yöntemleri.....	19

2.4.3.1 Cerrahi Girişim	19
2.4.3.2 Radyasyon Terapisi	19
2.4.3.3 Kemoterapi	20
2.5 ANKAFERD HEMOSTAT (ABS, ANKAFERD BLOOD STOPPER)	20
2.5.1 Ankaferd Hemostat (ABS, Ankaferd Blood Stopper)'ın Etki Mekanizmaları.....	21
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	24
3.1 HÜCRE KÜLTÜRÜ	24
3.2 HÜCRELERİN PASAJ İŞLEMİ	24
3.3 ANKAFERD HEMOSTAT KONSANTRASYONLARININ HAZIRLANMASI.....	24
3.4 HÜCRE CANLILIĞI	24
3.5 HÜCRE İNDEKSİ	25
3.6 MİTOTİK İNDEKS	25
3.7 BRDU İŞARETLENME İNDEKSİ	26
3.8 KASPAZ AKTİVİTESİ	26
3.9 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. ÇOĞALMA HIZI.....	28
4.2. HÜCRE İNDEKSİ	31
4.3. MİTOTİK İNDEKS	32
4.4. BRDU İŞARETLENME İNDEKSİ.....	34
4.5. KASPAZ AKTİVİTESİ.....	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ	51

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Kanserin Ayırt Edici Özellikleri (Hanahan ve Weinberg 2011; Hanahan ve Weinberg 2000).	9
Şekil 2.2: Trachea'dan bronşiyollere uzanan hava yolları (Kılıç, 2006).	12
Şekil 2.3: Akciğer Tümörü (Kılıç ve Duman, 2017).	13
Şekil 2.4: ABS uygulanması sonucunda oluşan Protein ağ oluşumu (Beyazıt vd., 2011).	22
Şekil 2.5: ABS İle Tedavinin Ardından Yanık Lezyonunun İyileşmesi (Ciftçiler ve diğ., 2020).	23
Şekil 4.1: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).	29
Şekil 4.2: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).	29
Şekil 4.3: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait % canlılık değerleri.	30
Şekil 4.4: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait % canlılık değerleri.	31
Şekil 4.5: 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen hücre indeksi grafiği (--Kontrol, --1µl/ml, --2µl/ml, --4µl/ml).	32
Şekil 4.6: 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen hücre indeksi grafiği (--Kontrol, --1µl/ml, --2µl/ml, --4µl/ml).	32
Şekil 4.7: 0-72 saat süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine	33
Şekil 4.8: 0-72 saat süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine	34
Şekil 4.9: 0-90 dakika süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine	35

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Akciğer kanserinin histolojik yapısına göre sınıflandırılması (Trabis ve diğ., 2015).....	15
Tablo 2.2: Ankaferd Blood Stopper® sprey, ampul ve tampon formlarının içeriği (Haznedaroglu vd., 2012).....	21
Tablo 4.1: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).	28
Tablo 4.2: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).	28
Tablo 4.3: 0-72 saat süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine	33
Tablo 4.4: 0-72 saat süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine	34
Tablo 4.5: 0-72 saat süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine	35

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler Açıklama

°C	: Santigrat
ml	: Mililitre
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
sn	: Saniye

Kısaltmalar Açıklama

ABS	: Ankaferd Hemostat (Ankaferd Blood Stopper)
DMSO	: Dimetil sulfoksit
FBS	: Fetal dana serumu
MTT	: 3-[4,5 dimetil-2-tiazolil]-2,5-difenil tetrazolyum bromid
PBS	: Fosfat tamponlu tuzlu su çözeltisi
RPMI-1640	: Roswell Park Memorial Institute-1640
RTCA	: Gerçek zamanlı hücre analizi

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[KÜÇÜK HÜCRELİ DIŞI AKCİĞER KANSERİNDE ANKAFERD HEMOSTATİN ANTİPROLİFERATİF ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI]

[Zeliha KARADAĞ]

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

[Biyoloji Anabilim Dalı]

Danışman : [Doç. Dr. Mehmet R. TOPÇUL]

[Bu tez çalışmasında küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücreleri üzerine hemostatik ajan olan Ankaferd hemostat'ın antiproliferatif etkileri tespit edilmiştir. Bu amaçla deneyde normal akciğer hücresi BEAS-2B hücre hattı ile küçük hücreli dışı akciğer kanseri A549 hücre hattı kullanılmıştır. Deneyleerde hücre kinetiği parametreleri olarak hücre canlılığı, xCELLigence gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen hücre indeksi, mitotik indeksi, BrdU işaretlenme indeksi ve kaspaz aktivitesi değerlendirilmiştir.

Deneyleerde her iki hücre hattı için 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml ABS konsantrasyonları kullanılmıştır. 1µl/ml Ankaferd Hemostat konsantrasyonu IC₅₀ dozu olarak belirlenmiştir.

ABS'nin küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücreleri üzerinde meydana getirdiği antiproliferatif etkilerin araştırıldığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ABS'nin A549 hücre hattında hücre canlılığı, hücre indeksi, mitotik indeks ve BrdU işaretlenme indeksi parametrelerinde anlamlı bir düşüşe neden olurken kaspaz aktivitesinde anlamlı bir yükselişe neden olduğu gösterilmiştir.]

Haziran 2022, [64] sayfa.

Anahtar kelimeler: [Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri, A549, BEAS-2B, Ankaferd Hemostat]



SUMMARY

[M.Sc. THESIS]

**[INVESTIGATION OF THE ANTIPROLIFERATIVE EFFECTS OF
ANKAFERD HEMOSTAT ON NON-SMALL CELL LUNG CANCER]**

[Zeliha KARADAĞ]

İstanbul University

Institute of Graduate Studies in Sciences

[Department of Biology]

Supervisor : [Assoc. Prof. Dr.] [Mehmet R. TOPÇUL]

[In this thesis study, the antiproliferative effects of Ankaferd hemostat, which is a hemostatic agent on non-small cell lung cancer cells, were determined. For this purpose, normal lung cell BEAS-2B cell line and non-small cell lung cancer A549 cell line were used in the experiment. Cell viability, cell index obtained from xCELLigence real-time cell analysis system, mitotic index, BrdU labeling index and caspase activity were evaluated as cell kinetic parameters in the experiments.

ABS concentrations of 1µl/ml, 2µl/ml and 4µl/ml were used for both cell lines in the experiments. 1µl/ml Ankaferd Hemostat concentration was determined as IC₅₀ dose.

The results obtained from this study, which investigated the antiproliferative effects of ABS on non-small cell lung cancer cells, has been shown caused a significant decrease in cell viability,

cell index, mitotic index and BrdU labeling index parameters, while ABS caused a significant increase in caspase activity in A549 cell line. |

June 2022, [64] pages.

Keywords: | Non-small cell lung cancer, A549, BEAS-2B, Ankaferd Hemostat |



1. GİRİŞ

Kanser, yaşamı boyunca belirli sayıda bölünme kapasitesine sahip bir hücrenin kontrolsüz bir şekilde büyümesi ve bu hücrelerin anormal bir biçimde farklılaşarak tümöral kitleler oluşturmasıdır (Akkoç ve Toplu, 2016). Kanser hücreleri büyüme özellikleri bozulmuş olup klonal yayılım göstermektedirler (Futreal ve diğ., 2001). 20. yüzyılın en korkulan hastalıklarından biri olan kanser, onkolojide uygulanan yeni tanı ve tedavi yöntemlerine rağmen günümüz 21. yüzyılda kanser insidansı sürekli artmakta ve bu durum hastalığın dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu haline getirmektedir (Siegel ve diğ., 2015).

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) GLOBOCAN 2020 yılı kanser istatistiklerine göre 19,3 milyon yeni kanser vakası (melanom dışı cilt kanseri hariç 18,1 milyon) tespit edilmiştir. Kanser nedeniyle yaklaşık 10,0 milyon kanser vakalı (melanom dışı cilt kanseri hariç 9,9 milyon) ölümler meydana gelmiştir. Bu yılın verilerine göre 2,26 milyon (%11,7) veriyle kadın meme kanseri dünya çapında en sık görülen kanser türü olup; 2,21 milyon (%11,4) vaka sayısı ile akciğer kanseri ikinci en sık teşhis edilen kanser türü olarak bu sıralamada yerini almıştır. İstatiklere göre Kolorektal (%10,0), prostat (%7,3) ve mide (%5,6) kanserleri bu oranlarda akciğer kanserini izlemiştir. Ancak en çok mortalite oranı olarak akciğer kanseri, tahmini 1,8 milyon ölümlerle (%18) kanser ölümlerinin önde geleni olmayı sürdürmüştür (Ferlay, vd., 2021). Küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK), farklı tipteki akciğer kanserleri içerisinde %80'lik bir dilimi oluşturmaktadır (Gültekin ve diğ., 2008).

Kanserin türüne ve hangi aşamada olduğuna bağlı olarak birçok kanser tedavi yöntemi vardır. Kanser tedavileri arasında kemoterapi, cerrahi, radyasyon tedavisi, hormonal tedavi, immünoterapi gibi tedavi yöntemleri bulunur ve kanser tanısı konulan bu hastalara hastalık durumuna göre bir ya da birkaçı tedavide kullanılır. Fakat bu tedavi yöntemlerinin de zorlukları ve toksik etkilerinin olduğu bilinmesi gerekir (Kızılcı, 1999).

Günümüz kanser tedavilerinde en çok tercih edilen ve sadece hastaların yaşamlarını uzatan tedavi yöntemi kemoterapi ve radyoterapidir (Ozverel ve diğ., 2017).

Kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi prosedürlerinin sağlıklı dokular üzerinde birçok olumsuz yan etkileri vardır (Wang ve diğ., 2018). Bazı kemoterapötik ilaçların vücudun bağışıklık

sisteminde önemli görev ifa eden lenfosit ve miyeloid hücreleri üzerinde sitotoksik etkileri olduğu görülmüştür (Nowak ve diğ., 2006).

Kanser tedavisinde kullanılan bir diğer yöntem ise radyoterapidir. Bu tedavi sırasında kanserli bölgeye verilen radyasyonun o bölgede bulunan sağlam dokularında radyasyonun etki alanına girdiği için hücreleri yapısal ve morfolojik olarak olumsuz etkilemektedir. Bunun yanı sıra insan sağlığının dengeli bir şekilde devam ettirilmesini sağlayan iz element dengesini bozmaktadır (Çavuşoğlu ve diğ., 2008). Radyoterapi tedavisi gören hastaların birçoğunda yorgunluk, kusma ve bulantı görülmekte olup hastaları fizyolojik ve psikolojik olarak olumsuz etkilemesine bağlı olarak yaşam kalitesini düşürmektedir (Ünsal ve diğ., 2006). Dünyada en çok tercih edilen bu tedavi yöntemleri, sadece kanserli hücreyi hedef almamakla birlikte sağlıklı hücreler üzerinde sitotoksik etkilerinin olması, bitkisel içerikli, toksik olmayan ilaçların kanser tedavisinde kullanılması gerektiği konusunda yeni tedavi edici doğal içerikli ajanların üzerinde durulması hususunda önem arz etmektedir.

Ankaferd hemostat, kırmızı kan hücresi fibrinojen etkileşimlerini içeren ilk topikal hemostatik ajan olup *Thymus vulgaris*, *Glycyrrhiza glabra*, *Vitis vinifera*, *Alpinia officinarum* ve *Urtica dioica* bitkilerinin standartlaştırılmış bir karışımını içermektedir (Albayrak ve diğ., 2008).

Ankaferd Hemostatın toksisite çalışmaları yapılmıştır. HPLC kullanılarak mikotoksin tespit analizlerinde Ankaferd Hemostatın mikotoksin içermediği ortaya çıkmıştır. Yapılan kantitatif analiz çalışmalarında Ankaferd hemostat numunesinde Pb, Cd, Hg ve As ağır metallerinin olmadığı ve kromatografik analizlerde ise pestisit içermediği tespit edilmiştir. ABS örneğindeki dioksin analizleri, ABS'nin toksik yapılar içermediğini göstermiştir. Böylece mevcut toksikolojik sonuçlar ABS'nin güvenilir bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir. (Koluman ve diğ., 2016).

Bu tez çalışmasında, hemostatik bir ajan olan Ankaferd Hemostat'ın küçük hücreli dışı akciğer kanseri modeli olarak A549 hücre soyu üzerinde antiproliferatif etkileri incelenecektir. A549 hücre soyunun seçilmesindeki amaç ise Ankaferd Hemostat'ın bu hücre hattı üzerinde antiproliferatif etkilerine dair yapılan literatür çalışmalarında herhangi bir bilgiye rastlanılmamasıdır.

Bu çalışma kapsamında, Ankaferd hemostat'a maruz bırakılan A549 hücrelerinin hücre kinetiğindeki değişim parametreleri değerlendirilerek antikanser özellikleri araştırılmıştır. |



2. GENEL KISIMLAR

2.1 KANSERİN TARİHÇESİ

Kötü huylu olarak bilinen tümörlerle ilgili tanımlara ilk olarak Mısır papirüsleri, eski hint yazmaları ve Babil'in çivi yazılı tabletlerinde görülmektedir (Sigerist, 1960).

MÖ 3000 yıllarında yazılmış olan Edwin Smith Papirüsünde hastalıkların ve kanserin en eski yazılı tanımı olan meme kanseri hakkında bilgi verilmiştir. Yazara göre şişkin olan tümörün ciddi bir hastalık olduğu ve tedavisinin olmadığı sonucuna varmıştır. MÖ. 1500 tarihlenen Ebers Papirusunda ise yumuşak doku tümörü, yağ tümörü için ilk referansı içerir ki bunun yanı sıra cilt, rahim, mide ve rektum kanserlerine atıfta bulunur (Hajdu, 2011).

MÖ 15. yüzyılda yazılmış olan Ebers Papürüsünde tümörler için taş gibi sert nasır şeklinde damar tümörünün cerrahi yöntemlerle tedavisinin mümkün olabileceği yazılmaktadır (Hayırlıdağ, 2021). Mısırlılar, tümörleri ve kanserleri koter, bıçak ve tuzlarla tedavi etmeye çalışmışlardır. 19. yüzyıla kadar “Mısır merhemi” olarak kullanılan arsenik macunu kanser tedavisinde kullanılmıştır (Hajdu, 2004).

Aynı dönemde Sümerler, Çinliler, Hintliler, Persler ve İbraniler, çay, meyve suları, incir ve haşlanmış lahana gibi bitkisel ilaçları kanser tedavisi için kullanırken daha ciddi durumlarda ise solüsyon ve demir macunlarını (bakır, kükürt ve cıva) kullanmıştır (Castiglioni, 1931).

Hipokrat (M.Ö. 460-375) ve çalışma arkadaşları kanserin doğal nedenlerle başladığını düşünmüşlerdir ve özellikle yaşlılıkta kan, mukus, safra ve diğer vücut salgılarının fazlalığı veya yoksunluğunun kansere neden olabileceğini rasyonalize etmişlerdir. Kanserli büyümeler Hipokrat'a hareketli bir yengeci hatırlattığı için ülser oluşturan ve ülser oluşturmeyen tümörlere “karkinos” ya da “karkinoma” olarak isimlendirerek tıpta yeni devri başlatmıştır (Karpozilos ve Pavlidis, 2004).

Sert kanser uru veya sert tümör, karsinom ve kanserden ayrılmıştır ve belirsiz malign potansiyeli olan bir tümör olarak listelemiştir. Hipokrat, anorektal kondilomları ve polipleri tanımlamıştır ve lezyonun kolonda daha yüksek olup olmadığını incelemek için bir spekulum kullanmıştır. Bunun yanı sıra meme kanseri ve kanlı akıntılı rahim ağzı kanserinin öldürücü

tümörler olarak görmüş ve sadece palyatif tedavi uygulamıştır. Hipokrat, yüzeysel ve derin karsinomların ve kanserin birbirinden farklı olgu olduğu ve bunun içinde farklı şekilde tedavi edilmesi gerektiğini vurgulamıştır. Yüzeysel lezyonlar, losyon ya da koter ile tedavisi mümkün olduğunu söylemiştir. Derin tümörlerin ise bıçak kullanarak cerrahi işlem yapılması ya da tedavi edilemeyeceğini öne sürmüştür (Castiglioni, 1931).

Hipokrat, diğerlerinin yanı sıra, fareksteki bir kanseri başarılı bir şekilde dağlayarak uyguladığı tedaviden de söz eder (Retief ve Cilliers, 2001). Bu bilim insanına göre kanserin çizdiği klinik tablosu (tipik lenfatik yayılma) oldukça açıklayıcıdır: hasta acı çeker, iştahını kaybeder, ağızda acı bir tat geliştirir, kafası karışır ve zayıflar (Retsas, 1986).

Hipokrattan sonra ünlü bilim adamı Aulus Cornelius Celsus (MÖ 25-MS 50) kanseri, çevresindeki yapılara pençeleriyle yapışan bir yengece benzeterek, Hipokrat geleneğini sürdürmüştür ve latince “crab” olarak kullanılan ifadenin yerine yunanca “cancer” terimini kullanarak tıp literatürüne bu terminolojiyi sunmuştur (Karpozilos ve Pavlidis, 2004; Hajdu, 2011).

Aulus Cornelius Celsus, karsinom esas olarak vücudun üst kısımlarda, yüz bölgelerinde, burunda, kulakta, dudaklarda ve kadın memelerinde kendini gösterdiğini söylemiştir. Celsus’a incelemelerine göre etkilenen yerin çevresinde, hareketsiz kalan, eşit olmayan şekilde şişmiş, hatta bazen tıkanmış bir tür keskin ağrı hissedilir. Proksimal damarlar şişkin olduğunu belirtmiştir (Karamanou ve diğ., 2009).

Celsus, De Medicina adlı eserinde yüzeysel kanserin çeşitlerini tanımlamış olup mide, kolon, karaciğer ve dalak gibi iç organ ve parankimal organların kanserlerinden de bahsetmiştir (Hajdu, 2011). Kanser için erken ve agresif cerrahi tedavi yöntemi önerirken yüzeysel karsinomlar için topikal haşlanmış lahana, tuzlu bal ve yumurta akı karışımı ile tedavi edilmesini öne sürmüştür. İlerlemiş meme kanserlerinin kolda şişlik olsun ya da olmasın koltuk altında tekrarlama eğilimi olduğunu ve uzak organlara yayılarak ölüme neden olabileceğini iddia etmiştir (Hajdu, 2005; Castiglioni, 1931).

Tüm dünyanın yanı sıra Romalıların da kanser hakkındaki düşünceleri, Roma'da hekimlik yapan Yunanistanlı Claudius Galen'in (M.S. 130-200) dikkatini çekmiş ve bu alanda araştırmalar yapmıştır (Hajdu, 2004; Castiglioni, 1993). Ünlü doktor Galen, şişme anlamını karşılayan “oncos” teriminin ortaya çıkmasını sağlamıştır (Karpozilos ve Pavlidis, 2004). Galen tümörleri, doğası gereği tümörler (hamilelik döneminde uterusin gelişimi, ergenlik döneminde göğüsler), doğayı aşan tümörler (hipertrofi) ve doğaya karşı tümörler (hümorale tümörler) olmak üzere üç sınıfta incelemiştir.

Galen, sert kanser urunu (skir) doğaya aykırı olarak tanımlar. Karsinom ülserasyona dönüşerek sert, hissiz ve ağrılı bir hal alır. Galen'e göre sert olmayan kanser uru (skir) tamamen hissiz değildir, ancak hissizleşen tümörlerin tedavisi mümkün değildir. Daha az duyarlı sert kanser urunu (skir) tedavi edilebilir, ancak kolay iyileşmez (Karamanou ve diğ., 2009).

Galen'in humoral patoloji teorisine göre tümör oluşumu kara safrayla birebir ilgisi olduğu yönündedir (Bettmann, 1956; Sigerist, 1960).

Kalın siyah safranın ülserli ve tedavi edilemez kansere neden olduğuna, ince sarı safranın ise ülserli olmayan ve tedavi edilebilir kanserden sorumlu olduğunu düşünmüştür. Bu nedenle ve kara safra birikimini azaltmak için purgatiflerle tedavi edilmesi gerektiğini savunmuştur (Hajdu, 1979; Castiglioni, 1931).

Galen'e göre; tümör proliferasyonu, safra yüklü damarlar tarafından yapılır ve tümör yayılımı gerçekleşir. Tümörü cerrahi olarak çıkarılması gerektiği, yarayı da kandan temizlememiz ve demiri ısıtarak o çıkarılan kısmı dağlamamız gerektiğini söylemiştir. Kanserin neden olduğu ağrılara karşı haşhaş kökü infüzyonu kullanılması gerektiğini vurgulamıştır (Thorwald, 1962).

Mikroskopik anatominin kurucusu olan İtalyan hekim Marcello Malpighi (1628-1694) kanser üzerine ilk olarak bilimsel mikroskopik inceleme yapmıştır (Bettmann, 1956). Patolojik anatominin babası olarak bilinen Morgagni ise günümüzde var olan birçok kanser türünü bularak primer tümörleri ve sekonder tümörlerin ayırımını yapmıştır (Yener, 1973).

2.2 KANSER

Kanser, bir organ veya dokuda bulunan hücrelerin anormal şekilde farklılaşması ve belirli bir sayıda bölünme yeteneğine sahip hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması ile ortaya çıkan yıkıcı bir hastalık grubudur (Ayla ve diğ., 2013).

Kanser hücreleri hücre bölünmesinin fizyolojik kurallarını hiçe sayarak kontrolsüz bir şekilde çoğalır ve çevresindeki dokulara metastaz yapar. Kansere bağlı ölümlerin %90'ı kanser hücrelerinin metastaz denilen diğer dokulara yayılmasından kaynaklanmaktadır (Abbas ve Rehman, 2018).

2.2.1 Tümör Biyolojisi

Hücre bölünmesi, büyüme faktörlerinden bağımsız olarak büyüdüğünde, bir dizi adımı içeren tümörleri oluşturur. İlk aşamada, kontrolsüz hücre bölünmesi nedeniyle hiperplazi olarak bilinen büyük bir hücre kütlesi oluşur. Bunu hücre büyümesine anormalliklerin eşlik ettiği displazi takip eder. Bir sonraki aşamada bu atipik hücreler dokunun sınırlı bir alanına yayılmaya başladıklarında orijinal işlevlerini kaybederek ek değişiklikler meydana gelir. Bu aşama anaplazi olarak adlandırılır ve bu aşamada tümör invaziv değildir. Bu aşamadaki tümörlere Benign (iyi huylu, selim) tümör olarak isimlendirilir. İleri evrede tümör hücreleri metastaz yapma yeteneği kazanır. Yani kan dolaşımı yoluyla çevresindeki veya uzağındaki doku ve organlara yayılım gösterir. Bu aşamadaki tümöre malign denilir ve tedavisi çok zordur (DeBerardinis vd., 2008).

Tüm normal dokular, her hücreye besin ve oksijen sağlamak için yeterince kılcal damarlarla beslenir. Benzer şekilde, büyüme ilerledikçe tümörler, anjiyogenez adı verilen bir süreçte yeni kan damarları oluştururlar, böylece besinler, normal kan damarlarına erişimi olan tümör kütesinin merkezinde bulunan hücrelere ulaşır (Carmeliet ve Jain, 2011).

2.2.2 Tümörlerin Sınıflandırılması

2.2.2.1 Tümörler Köken Aldıkları Hücre Tipine Göre Sınıflandırılması

Tümörler, köken aldıkları hücre tipine göre isimlendirilirler.

- Değişen epitel hücrelerinden kaynaklanan karsinomlar, tüm kanser türleri içinde en yüksek oranı oluştururlar.
- Sarkomlar; kemik, kas, yağ ve bağ dokusundaki kanser anormalliklerini ifade eder.
- Kanserli beyaz kan hücrelerinden kaynaklanan lösemi.
- Lenfatik sistem veya kemik iliğinden (BM) türetilen hücrelerin malignitesi olan lenfoma.

- Miyelomlar, antikorları sentezleyen belirli beyaz kan hücrelerinin kanserlerini gösterir (DeBerardinis ve diğ., 2008).

2.2.2.2 Dereceye göre sınıflandırma

Derece 1: Bu, hafif anormalliğe sahip iyi differansiye hücreleri içerir.

Derece 2: Bu hücreler orta derecede farklılaşmış olup derece 1’de ki tümörlere göre biraz daha anormal yapıdadır.

Derece 3: Hücreler yanlış farklılaşmış olup mutasyona uğramış kromozomlara sahiptir. Anormal yapıya sahip olup çevresindeki hücreleri etkiler ve kana girebilecek bazı zararlı kimyasallar üretir.

Derece 4: Olgunlaşmamış, ilkel ve farklılaşmamış hücrelerdir (Abbas ve Rehman, 2018).

2.2.3 Kanserın Ayırt Edici Özellikleri

Kanserlerin büyümesine “olanak sağlayan özellikler” ayırt edici özellikleri vardır.



Şekil 2.1: Kanserinin Ayırt Edici Özellikleri (Hanahan ve Weinberg 2011; Hanahan ve Weinberg 2000).

Proliferatif Sinyalleşmeyi Sürdürmek: Kanser hücrelerinin en temel özelliği, kronik çoğalmayı sürdürme yeteneklerini içerir. Sağlıklı hücrelerde, hücre büyüme ve bölünme süreçleri boyunca büyümeyi teşvik eden sinyallerin üretimini ve salınımı sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Bundan dolayı sağlıklı hücreler kontrollü ve zamanla sınırlı bir hücre bölünmesi, büyümesi ve ölümü döngüsüne sahiptir. Sağlıklı dokuda, "büyüme faktörleri" adı verilen bazı sinyal proteinleri hücre çoğalmasını düzenler. Büyüme faktörleri, tüm hücrelerin dış sınırını oluşturan plazma zarının yüzeyinde bulunan reseptör proteinlerine bağlanarak çalışır. Farklı hücre tipleri, farklı plazma membran reseptörlerine sahiptir ve bu nedenle farklı büyüme faktörlerine yanıt verir.

Bir büyüme faktörü reseptörüne bağlandığında, çok adımlı bir süreci başlatır; proteinler, hücre büyümesini ve bölünmesini uyaran moleküler değişiklikleri tetikleyen sinyalleri iletir. Normal hücrelerde bu büyüme düzenlidir.

Kanserde ise bu durum farklıdır. Büyüme faktörlerinden gelen sinyaller düzensizleşir ve kanser hücreleri kendi çoğalmalarını uyaran moleküller üretir. Böylece kanser hücresi sürekli çoğalır.

Büyüme baskılayıcılardan kaçınmak: "Tümör baskılayıcılar" olarak sınıflandırılan birçok gen (TP53, Rb, APC, CD95 gibi), hücrelerin çoğalmasını önlemek veya engellemek için çalışır. İşlevleri bakımından büyüme faktörlerinin tersi fonksiyona sahiptirler.

Ancak kanser hücreleri, bu tümör baskılayıcı genlerden kaçır veya onları etkisiz hale getirerek kontrolsüz bir şekilde bölünmeye devam etmelerine izin verir.

Hücre ölümüne direnmek: Tümör büyümesi, sadece hücre proliferasyon hızından değil, aynı zamanda hücre ölüm oranından da etkilenir. Sağlıklı hücreler, "desteklenmiş intihar" veya programlanmış hücre ölümü (apoptoz adı verilen) için doğuştan gelen bir yeteneğe sahiptir. Hücreler anormal davranmaya başlarsa, hücrelerin ölmesine neden olan sinyaller gönderilir. Bu nedenle apoptoz, vücudun kansere karşı doğal savunma mekanizmasıdır. Tipik olarak, radyasyon, travma veya oksidatif hasardan zarar gören hücreler, genellikle kansere yol açan DNA mutasyonlarına neden olur ve önceden apoptozu başlatır. Ancak kanser hücreleri bu koruyucu mekanizmayı sınırlar veya bazen tamamen geçersiz kılar (Hanahan ve Weinberg 2011; Hanahan ve Weinberg 2000).

Sınırsız Çoğalma Potansiyeli (Kontrolsüz Replikasyon):

Normal hücrelerde, kromozomların uçlarında bulunan telomerik DNA, her hücre bölünmesiyle birlikte, yaşlanmayı aktive ederek kısalmır, böylece hücre bölünmeyi durdurur (Hanahan ve Weinberg 2011; Greenberg, 2005). Kanser hücreleri, telomerlerin uzunluğunu artırmak için telomeraz adı verilen bir enzimi indükleyerek telomer uzunluğunu kritik bir eşğin üzerinde tutarak süresiz olarak bölünme yeteneğine sahip olmuşlardır (Hanahan ve Weinberg 2011; Hanahan ve Weinberg 2000).

Tümör destekli inflamasyon: Bağışıklık sistemi kanser hücrelerini kontrol altına almaya çalışırken, kanser hücrelerinin büyümesini sağlayan inflamatuvar yanıtları da artırabilir.

Bağışıklık sistemimizdeki hücreler, tümörleri "iyileşmeyen yaralar" olarak yanlış teşhis edebilir ve istemeden onların hayatta kalmasına, kendilerini onarmasına ve daha agresif bir şekilde büyümesine yardımcı olabilir.

Genom kararsızlığı ve mutasyon: Kanser hücreleri, DNA'mızda kodlanan programı bozarak genomik bütünlüğünü kaybeder. Kanser hücrelerinde, normalde DNA'mızı bozulmaktan koruyan önemli proteinler yeniden düzenlenir ve hasar görür.

Kanser hücreleri mutasyon oranlarını artırdıkça, vücudun sağlam bir genomunu korumak için sisteminden kaçarlar. Genomik kararsızlık, birçok kanser hücrelerinin doğal bir parçasıdır. Bu kararsızlık, sadece tümörler arasında değil, aynı zamanda tek bir tümör içinde de muazzam heterojenliğe yol açar (Hanahan ve Weinberg 2011; Hanahan ve Weinberg 2000).

Anjiyogenezi tetiklemek: Kanser hücreleri, besin, oksijen sağlamak ve atık ürünleri uzaklaştırmak için 'anjiyojenik anahtar' aktive ederek yeni damar sisteminin üretimini düzenleme becerisi kazanır. Bunu yaparken, kan damarı üretimini engelleyen faktörlerin üretimini azaltarak ve kan damarı oluşumunu teşvik eden faktörlerin üretimini artırarak kan damarları oluşturabilen, tümörde bulunan sağlıklı hücreleri de kontrol ederek lokalize bir tümör hücresi kitlesi istilacı ve metastatik hale gelir (Bergers ve Benjamin, 2003; Hanahan ve Weinberg 2011).

İnvazyon ve metastazın aktive etmek: Kanser hücrelerinin normal hücrelere göre en önemli ayırt edici özelliği çevre doku ve organları istila ederek yayılım göstermeleridir. Bu yayılım sonucunda kanser hücresi, normal doku ve organların işlevini bozar. Bu durumda kanser hastalığının tedavisini oldukça zorlaştırır Hanahan ve Weinberg 2011; Van Zijl ve diğ., 2011).

Enerji metabolizmasını değiştirme: Hücreler, besinleri emilimi, çevrelerindeki değişikliklere tepki vermek ve sabit bir iç ortamı (homeostaz) sürdürmek gibi işlevleri yerine getirmek için enerjiye ihtiyaç duyarlar. Kanser hücreleri ise normal hücrelere göre çok hızlı proliferasyon yaptıkları için daha fazla enerjiye ihtiyaçları vardır. Bunun için çoğu kanser hücresi enerji üretmek için alternatif metabolik yollar kullanır. Kanser hücresi glikozu çok az ATP üretmesine karşılık aerobik ortamda laktata çevirerek artmış glikoz alımı sayesinde enerji üretimi çok hızlı yapmaktadır ve kanser hücrelerinin bu özelliği "Warburg Etkisi" olarak adlandırılmaktadır (Kısaçam ve Temizer 2019; Hanahan ve Weinberg 2011).

Bağışıklık sisteminden kaçınmak:

Genellikle, vücudun "sürekli tetikte" olan bağışıklık sistemi, kanserli tümörlere dönüşmeden önce anormal ve hasarlı hücreleri arar ve yok eder.

Ancak, kanser hücreleri, onları ortadan kaldırmak için gönderilen bağışıklık sisteminin bileşenlerinden kaçmak ve onları devre dışı bırakmak için adapte olabilir. Kanser hücreleri, interlökin-33 kaybı yoluyla vücudun bağışıklık sistemi ile etkileşimi önleyebilmektedir (Hanahan ve Weinberg, 2011; Hanahan ve Weinberg, 2000).

2.3 AKCİĞER ANATOMİSİ

Akciğerler göğüs boşluğuna uzanan, nefes alıp verdikçe genişleyen ve büzülen, kaburgaların çevrelediği kafesin içinde bulunan parlak, pembe ve süngerimsi yapıda olan bir çift solunum organıdır (Kılıç, 2006).



Şekil 2.2: Trachea'dan bronşiyollere uzanan hava yolları (Kılıç, 2006).

Sağ akciğer ve sol akciğer olmak üzere mediastinum boşluğu ile birbirinden ayrılmıştır. Sağ akciğer 625 gr olup sol akciğer 565 gr ağırlığındadır. Bir akciğer 3700 cc. hava alabilecek anatomidedir (Yücel, 2018).

Koni şeklindeki akciğerlerin dış yüzeyi saran çift katlı seröz bir zar olan plevraya sahiptir. Akciğerin üst kısmına *apex pulmonis*, tabanına *basis pulmonis* denilmektedir (Kılıç, 2006). Sağ akciğer *fissura obliqua* ve *fissura horizontalis* adı verilen iki yarıkla birbirinden ayrılır. Bu yarıklar aracılığıyla sağ akciğerde üst lob (*lobus superior*), orta lob (*lobus medius*) ve alt lob

(lobus inferior) olmak üzere üç lobtan oluşmaktadır. Sol akciğer de fissura obliqua yarık ile üst lob (lobus superior), alt lob (lobus inferior)'dan oluşur (Yücel, 2018).

2.4 AKCİĞER KANSERİ

Yılda tahmini 2.20 milyon yeni vaka ve 1.79 milyon ölümlle akciğer kanseri, dünya çapında en sık teşhis edilen kanserlerden biridir ve kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir (WHO, 2020). Akciğer kanseri, parankimi ve bronş ağacı hücrelerinin sürekli bölünerek anormal şekilde kontrolsüz çoğalmasıyla meydana gelmesi sonucu oluşan bir hastalıktır.



Şekil 2.3: Akciğer Tümörü (Kılıç ve Duman, 2017).

Tedaviyi ve prognostik kararları kolaylaştırmak için akciğer kanseri, genel olarak küçük hücreli karsinom veya küçük hücreli dışı karsinom olarak kategorize edilir.

Işık mikroskopunda incelenerek, akciğer kanserini dört majör ve birkaç minör histolojik sınıfa ayrılmıştır (Rami-Porta ve diğ., 2009). Başlıca histolojik sınıflar adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom, küçük hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinomdur. Adenokarsinomlar (ADK) genelde sigara öyküsü olmayan kişilerde ve altta yatan akciğer hastalığı olan hastalarda çıkar ve kökenini bronşiyol epitelinden alır. Hızlı metastaz yaparak histolojik olarak heterojen periferik kitlelerdir.

Bu kanser türü genelde vücudun mukus salgılayan dokularında ortaya çıkar (Collins ve diğ., 2007). Yassı hücreli karsinom bir kanser çeşidi olan skuamöz hücreli karsinomlar (SHK) bronş epitelinde skuamöz metaplazi/displazinin ilerlemesiyle gelişen merkezi yerleşimli kitlelerdir. Özellikle sigara kullanan kişilerde bu tümör gelişir. Skuamöz hücreli karsinomlar adenokarsinomlara göre daha geç metastaz yapma eğilimindedirler (Patz, 2000). Küçük hücreli karsinomlar (KHK) klinik olarak agresiftir ve bu tümörlerin nükleolü belirsiz, yuvarlak ya da fuziform küçük nükleuslu, dar sitoplazmalıdır (Travis, 2012). Yüksek mitotik aktivite gösteren ince granüler kromatine sahip olup bazofilik görünüme sahiptir (Yener ve Apa, 2014). Genellikle geniş mediastinal tutulum ile merkezi yerleşimlidir ve erken ekstratorasik metastazlarla ilişkilidir. Küçük hücreli karsinomlar ilaç tedavisine yanıt vermektedir, ancak genellikle tanı anında hastalık boyutu ilerlemiştir ve hastaların prognozu kötü durumda olur (Midthum, 1996). Büyük hücreli karsinomlar kötü diferansiyedir. Yani morfolojik olarak skuamöz ya da glandüler ayrışma göstermez. Belirgin ve poligonal nükleoluslu tümör hücreler olup heterojen klinikopatolojik bir antitedir (Collins ve diğ., 2007).

Tablo 2.1: Akciğer kanserinin histolojik yapısına göre sınıflandırılması (Trabis ve diğ., 2015).

Skuamöz hücreli karsinom	Preinvaziv lezyonlar	Papillomlar
Keratinize skuamöz hücreli karsinom Keratinize olmayan skuamöz hücreli karsinom Bazaloid skuamöz hücreli karsinom	Atipik adenomatöz hiperplazi İn situ adenokarsinom İn situ skuamöz hücreli karsinom Diffüz idiyopatik pulmoner nöroendokrin hücre hiperplazisi	Skuamöz hücreli papilloma Glandüler papilloma Karışık skuamöz ve glandüler papilloma
Tükürük bezi tipi tümörler	Nöroendokrin tümörler	Adenokarsinom
Mukopidermoid karsinom Adenoid kistik karsinom Epitelyal miyoepitelyal karsinom Pleomorfik adenom	Küçük hücreli karsinom Kombine küçük hücreli karsinom Büyük hücreli nöroendokrin karsinomu Kombine büyük hücreli nöroendokrin karsinomu Karsinoid tümörler Büyük hücreli karsinom Adenoskuamöz karsinom Sarkoidoz karsinomları	Lepidik adenokarsinom Asiner adenokarsinom Papiller adenokarsinom Mikropapiller adenokarsinom Solid adenokarsinom İnvaziv müsinöz adenokarsinom Kolloid adenokarsinom Fetal adenokarsinom Enterik adenokarsinom Minimal invaziv adenokarsinom
Mezenkimal tümörler	Adenomları	Ektopik kökenli tümörler
Akciğer hamartomu Kondroma PEComatous tümör Konjenital peribronşiyal miyofibroblastik tümör Diffüz pulmoner lenfanjomatozis İnflamatuvar miyofibroblastik tümör Epitelioid hemanjiyodotelyoma Plevropulmoner blastom Sinovyal sarkom Pulmoner arter intimal sarkomu EWSR1 – CREB1 translokasyonlu pulmoner miksoid sarkom Miyoeptelyal tümör	Sklerozan pnömositoma Alveoler adenomu Papiller adenom Müsinli kistadenom Mukoza bezi adenomu	Germ hücre tümörleri İntrapulmoner timoma Melanom Meningioma
Lenfohistiyositik tümörler	Diğer ve sınıflandırılmamış karsinomlar	Metastatik tümörler
Mukozaya bağlı ekstranodal marjinal zon lenfomaları Lenfoid doku (MALT lenfoma) Diffüz büyük hücreli lenfoma Lenfomatoid granülomatozis İntravasküler büyük B hücreli lenfoma Pulmoner Langerhans hücreli histiyositoz Erdheim – Chester hastalığı	Lenfoepitelyoma benzeri karsinom NUT karsinomu	

2.4.1 Küçük Hücreli Dışı Akciğer Kanseri

Akciğer kanseri, batı ülkelerinde kansere bağlı ölümlerin en önde gelen nedenidir. Akciğer kanseri, histolojik tipine göre küçük hücreli dışı akciğer kanseri (KHDAK) ve küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) olarak sınıflandırılır. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri, tüm akciğer kanserlerinin %83'ini oluşturur ve bu tümörlerin beş yıllık sağ kalım oranı %10-15 arasında değişir (Balta, 2013). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinin birçok alt tipi vardır ve bunların en yaygınları adenokarsinom, skuamöz hücreli karsinom ve büyük hücreli karsinomdur (Travis ve diğ., 2004; Wahbah, 2007). Adenokarsinomlar en sık görülen KHDAK tipidir ve tüm akciğer kanserlerinin %40'ını oluşturur (Travis, 2015).

Akciğer kanseri evrelemesi prognozu belirlemede büyük önem taşımaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer kanseri evresinin tespit edilmesinde primer tümör özellikleri (T), lenf nodu tutulumu derecesi (N) ve metastaz varlığı (M) kriterlerine dayanan TNM evrelemesini kullanır. T, N ve M kombinasyonu ile tümör derecesi (I-IV) tespit edilir ve tedavi seçenekleri belirlenir (Van Schil ve diğ., 2013).

2.4.2 Akciğer Kanseri Etiyolojisi

Akciğer karsinoması etiyolojisinde çeşitli etkenler rol oynamaktadır. Bu faktörler arasında sigara kullanımı, hava kirliliği, diyet, viral enfeksiyonlar, mesleki kanserojenler, genetik ve immünolojik faktörler bulunmaktadır (Alberg ve Brock, 2003).

2.4.2.1. Tütün Kullanımı

Tek bir etiyolojik ajan olarak tütün, akciğer tümörünün oluşumunda açık ara en önemli risk faktörüdür. Dünyada her yıl akciğer kanseri vakalarının %80'inin erkeklerde, kadınlarda %50'sinin sigaradan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Jemal ve diğ., 2011).

Esrari, kokain ve sigara içenlerdeki premalign değişikliklere benzer şekilde, bronş epitelinde metaplastik histolojik ve moleküler değişiklikler tanımlanmıştır (Aldington ve diğ., 2008).

2.4.2.2. Hava Kirliliği

Dış veya iç hava kirliliği, akciğer kanseri için önemli bir çevresel risk faktörüdür; fabrikalar ve otomobillerin neden olduğu kirli havaya, yemek dumanlarına veya iç mekan dekorasyonundan

kaynaklanan formaldehitlere uzun süre maruz kalmak akciğer kanseri riskini artırır (Raaschou ve diğ., 2010).

Ekolojik araştırmalar, akciğer kanserinin %50'den fazlasının kentsel alanlarda meydana geldiğini, bu da büyük olasılıkla endüstriyel kaynaklardan gelen kirli havadan ve araç egzozundan kaynaklandığını göstermiştir (Dockery ve diğ., 1993; Peto, 1986).

Dış ortam hava kirliliği çoğunlukla araç egzozundan, ısıtma sistemlerinden ve endüstriyel atıklardan kaynaklanmaktadır. Fosil yakıtların yanması sonucu polisiklik aromatik hidrokarbonları, arsenik, nikel ve krom gibi kanserojenleri içermektedir (Alberg ve diğ., 2002)

Yakın zamanda yapılan bir araştırma ayrıca, mono nitrojen oksitler olan nitrik oksit ve nitrojen dioksitin araç egzozundan çıkan ana kanserojen maddeler olduğunu göstermektedir. Gaz halindeki nitrik oksit ile akciğer adenokarsinomuna neden olduğu görülmektedir (Raaschou ve diğ., 2010; Liaw ve diğ., 2010).

2.4.2.3. Radon

Radon, uranyumun parçalanmasıyla radyumdan doğal olarak üretilen bir soy gazdır (Alberg, 2007). Radon, genellikle topraktan ve yapı malzemelerinde bulunur. Radon, akciğer kanserinin sigaradan sonra ikinci en yaygın nedenidir ve Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl yaklaşık 20.000 akciğer kanseri ölümü radonla ilgilidir (Pawel, 2004).

2.4.2.4. Mesleki Maruziyet

Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı, insan akciğeri için kanserojen olarak on iki mesleki maruziyet faktörünü tanımlamıştır. Bunlar; alüminyum üretimi, arsenik, asbest, bis-klorometil eter, berilyum, kadmiyum, altı değerlikli krom, kok ve kömür gazlaştırma dumanları, kristal silika, nikel, radon ve kurumdur (Steenland, 1996).

Asbest, iyi bilinen mesleki kanserojendir. Doğal olarak bulunan lifli yapıda olan silikat mineraldir. Yüksek düzeyde asbeste maruz kalmak akciğer kanserine ve mezotelyomaya neden olabilir (Ridge, 2013).

2.4.2.5. Genetik Faktörler

Akciğer kanseri en yaygın genetik hastalıklardan olup moleküler patogenezi büyük ölçüde karmaşık ve heterojendir. Akciğer kanseri, çeşitli genetik ve epigenetik değişikliklerle (örn. nokta mutasyonu, amplifikasyon, insersiyon, delesyon ve transpozisyon) ve büyüme ve tümör baskılayıcı yolların inhibisyonunu indükleyen yolun aktivasyonu ile bağlantılıdır. Onkogenlerin mutasyonel aktivasyonu, tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu ve hücre döngüsünün düzenlenmesinde ve DNA onarımında rol oynayan genlerdeki değişiklikler akciğer kanserinde meydana gelen başlıca moleküler değişikliklerdir (Cicek ve diğ., 2018).

2.4.2.6. Radyasyon

Akciğer kanseri ile ilgili iki tür radyasyon vardır: düşük lineer enerji transfer radyasyonu (örneğin, x-ışınları, gama ışınları) ve yüksek lineer enerji transfer radyasyonu (örneğin, nötronlar, radon). Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek dozda radyasyona maruz kalmanın akciğer kanseri ile ilişkili olduğunu bulmuştur (Hendee, 1992).

2.4.2.7. Diyet

Değiştirilebilir kanser riskleri arasında bulunan diyet, %30 oranında kanser riski ile ilişkilidir. Birçok çalışma, diyet faktörlerinin akciğer kanseri riskine sebep olduğunu göstermiştir (Cruz ve diğ., 2011).

Beslenme biçimi ve akciğer kanseri üzerine onlarca yıllık araştırmaların ardından, retinol ve beta-karoten gibi antikanserojenik aktiviteye sahip olduğu düşünülen birçok spesifik mikro besin bulunmuştur. Mikro besinlerin çoğu meyve ve sebzelerde yaygındır (Peto ve diğ., 1981; Caballero, 2005). Daha fazla taze meyve ve sebze alımı akciğer kanseri riskini azaltabilir (Mao ve diğ., 2016).

2.4.2.8. Diğerleri

Bağışıklık yetmezliği, virüsü enfeksiyonu ve östrojen seviyeleri gibi akciğer kanseri için hala başka risk faktörleri vardır. Enfeksiyonlar akciğer kanserinde nedensel bir faktör olarak kabul edilmiştir. Örneğin, onkojenik virüsler akciğer kanserinin bir nedeni olarak öne sürülmüştür.

Bu faktörlerin akciğer kanseri için gerçek risk faktörleri olup olmadığı sorusu tartışmalıdır ve bunu kesin olarak değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır (Mornex ve diğ., 2003).

2.4.3 Akciğer Kanseri Tedavi Yöntemleri

Malignitenin tanınmasından bu yana, birçok araştırmacıların amacı, kanser için yeni kaliteli tedavi yöntemlerinin bulunmasıdır (Wu ve diğ., 2006). Tedavi seçimi; kanserin tipine, lokalitesine ve ilerleme aşamasına bağlıdır. Cerrahi, radyasyon bazlı cerrahi bıçaklar, kemoterapi ve radyoterapi, geleneksel ve en yaygın kullanılan tedavi yöntemlerinden bazılarıdır (Dorai ve Aggarwal, 2004).

2.4.3.1 Cerrahi Girişim

Cerrahi, rezeksiyon veya operasyon kemoterapi ve radyoterapiye kıyasla çevre dokulara en az zararı sağladığı için, en umut verici ve geleneksel tedavilerinden biri olarak düşünülmektedir. Ameliyatın tercih edilen tedavi seçeneği olarak görülmesinin bir başka nedeni de, gereksiz doku hasarı riski olmadan tümörün çıkarılabilmesidir. Ameliyat tedavi edici olsa da, hastaların sadece üçte biri ila dörtte biri cerrahi rezeksiyon önerilebilecek kadar erken bir evreye sahiptir.

Ameliyatlar kanserin evresine göre de değişiklik göstermektedir. Açık cerrahi durumunda, büyük bir kesim yapılır ve bu genellikle tümörün ve bazı yakın lenf düğümleriyle ilişkili bir miktar sağlıklı dokuların çıkarılmasıyla sonuçlanır. Buna karşılık, minimal invaziv cerrahi için, cerrah bir büyük yerine birkaç küçük kesi yapar ve daha sonra üzerine kamera takılı ince bir tüp olan laparoskop yardımıyla tümörü ayrıntılı olarak görür. Kamera, cerrahın aktivitelerini izlemesine yardımcı olan bir ekranda görüntüyü gösterir.

Tümör, az miktarda sağlıklı doku ile birlikte özel cerrahi aletlerin yardımıyla dikkatlice çıkarılır (Wagner ve diğ., 1995).

2.4.3.2 Radyasyon Terapisi

Röntgen tarafından 1895 yılında X-ışınlarının keşfi, kanser tedavisine olanak sağlayarak tıpta önemli bir devri başlatmıştır. Marie Curie'nin radyum üzerine yaptığı araştırma, onu iki kez Nobel ödülü kazanmasını ve radyoterapi alanın öncüsü olmasını sağlamıştır (Baskar ve diğ., 2012). Radyasyon tedavisinde kullanılan radyasyon türü iyonlaştırıcı radyasyondur. Uygulanan

bölgede biyolojik cisimlerdeki parçacıkların elektriksel olarak yüklenmesine neden olur. Bu enerji ya kanser hücrelerini doğrudan öldürebilir ya da genetik olarak onları apoptoza ve hücre ölümüne yol açacak şekilde değiştirebilir. Radyasyon tedavisinin olumsuz etkisi, ana tümörlü kitlenin periferinde bulunan normal hücrelere de çarpmasıdır (Goldblum ve diğ., 2013).

2.4.3.3 Kemoterapi

Kemoterapi, kemoterapik ajanlar kullanılarak tümör hücrelerinin çoğalmasını durdurur ya da ölmeleri için değişiklikler meydana getirir. Keşfedilen kemoterapötik ilaçlardan toplam 132 tanesi FDA onaylıdır (DeVita ve Chu, 2008). Kemoterapi sırasında kullanılan kemoterapötikler; alkilleyici ajanlar, kortikosteroidler, anti metabolitler, anti tümör antibiyotikler, mitotik inhibitörler ve topoizomeraz inhibitörleridir (Baykara, 2016).

2.5 ANKAFERD HEMOSTAT (ABS, ANKAFERD BLOOD STOPPER)

Ankaferd Blood Stopper (ABS), klinik kanamaların yönetimi için hemostatik ajan olarak kullanılan folklorik bir bitki özüdür (Beyazit ve diğ., 2010; Albayrak, 2008; Teker, 2010).

Topikal hemostatik bir ajan olan ABS, *Thymus vulgaris* (Kekik) , *Glycyrrhiza glabra* (Meyan), *Vitis vinifera* (Koruk), *Alpinia officinarum* (Havlıcan) ve *Urtica dioica* (Isırgan) bitkilerinin standardize bir karışımını içermektedir ve bu bitkilerin her birinin endotel, kan hücreleri, anjiyogenez, hücre proliferasyonu, vasküler dinamikler ve hücre mediyatörleri üzerinde bilinen etkileri vardır (Beyazit ve diğ., 2010; Sheela ve diğ., 2006).

Tablo 2.2: Ankaferd Blood Stopper® sprej, ampul ve tampon formlarının içeriği (Haznedaroglu vd., 2012)

Aktif Madde Miktarı					
Aktif Madde Formu	Sprej (mg/ml)	Ampul (mg)	Tampon (mg)		
ABS'nin Bulunduğu Kap Ölçüsü		2 ml	2.5x7 cm 3 ml	5x7.5 cm 10 ml	20x20 cm 100 ml
<i>Urtica dioica</i> (Isırgan)	0.06	0.12	0.18	0.6	6
<i>Vitis vinifera</i> (Koruk)	0.08	0.16	0.24	0.8	8
<i>Glycyrrhiza glabra</i> (Meyan)	0.09	0.18	0.27	0.9	9
<i>Alpinia officinarum</i> (Havlıcan)	0.14	0.14	0.21	0.7	7
<i>Thymus vulgaris</i> (Kekik)	0.10	0.10	0.15	0.5	5

TSE'nin CE belgesi ile Avrupa pazarlarında yer alan, GMP (iyi üretim şartları) koşullarında üretilen Ankaferd Blood Stopper (ABS) ürünleri; stabilite, sterilite, toksisite ve iritabilite testlerinden başarıyla geçerek Sağlık Bakanlığı İlaç ve Eczacılık Genel Müdürlüğü tarafından harici kanamaların kontrolünde kullanılmak üzere “ara ürün” olarak 31 Mayıs 2007 yılında ruhsatlandırılmıştır.

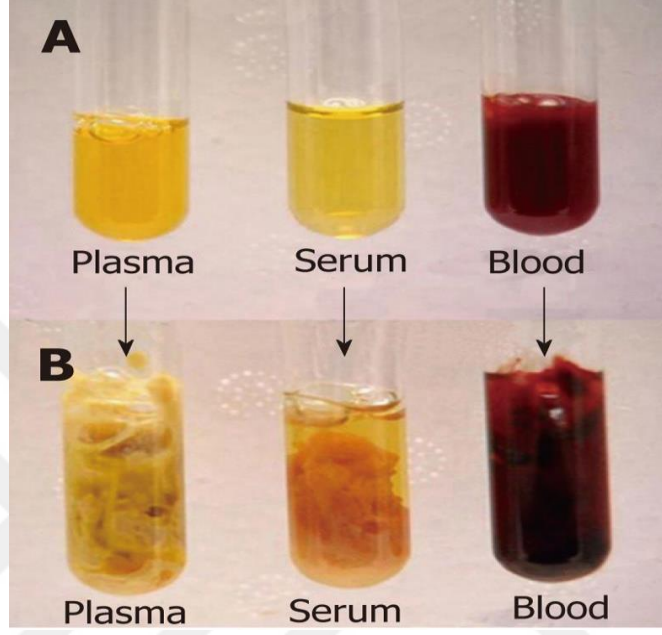
ABS, tüm fizyolojik hemostatik süreci kapsayan vital eritroid agregasyonu ile karmaşık bir protein ağının oluşumunu indükleyerek, kanama durdurucu ve çeşitli patolojik durumlara bağlı gelişen hasarlarda doku iyileştirici olarak görev yapar (Ercetin ve diğ., 2010).

2.5.1 Ankaferd Hemostat (ABS, Ankaferd Blood Stopper)'ın Etki Mekanizmaları

Doğal bitki içeriklerine sahip olan ABS, çoklu ilaca dirençli bakterilere antimikrobiyal, hemostatik, rejeneratif, anti-neoplastik, anti-inflamatuar, anti-mutajenik ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (Chopra ve Sivaraman 2019).

Hemostatik aktivitesi: ABS'nin en temel özelliği olan hemostatik aktivitesi, kan proteinleri özellikle fibrinojen-gama ile etkileşimleri içeren bir protein ağı oluşumunu indükleyerek

gerçekleştirir. Protein aglütinasyonu ve eritroid agregasyonu, ABS ile indüklenen protein ağının önemli bileşenleridir. Spektrin, ankirin ve aktin, eritroid agregasyon işlemi sırasında ABS tarafından modüle edilen önemli proteinlerdir (Ozel-Demiralp ve diğ., 2012; Haznedaroglu ve diğ., 2012).



Şekil 2.4: ABS uygulanması sonucunda oluşan Protein ağ oluşumu (Beyazıt vd., 2011).

Antimikrobiyal aktivitesi:

ABS, çoklu ilaca dirençli bakterilere karşı güçlü antimikrobiyal özelliklere sahiptir ve bu özelliği güçlü fakültatif anaerobik bakterilerle kontaminasyon olasılığının yüksek olduğu çeşitli oral ve periodontal cerrahi prosedürlerden sonra postoperatif enfeksiyonları kontrol altına almaya yardımcı olur (Bilgili ve diğ., 2010; Fisgin ve diğ., 2009; Çınar ve diğ., 2012; Aysan ve diğ., 2010).

Ankaferd Hemostat'ın, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mutans*, , *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salyarius*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*'a karşı etkili olduğu bulunmuştur (Çınar ve diğ., 2012).

Yara iyileştirici Etkisi: ABS'nin hücre dışı matrisi bozan enzimlerin inhibisyonunu sağlayarak yara onarımı ve ikinci derece yanık tedavisinde iyileştirici etkisinin olduğu bulunmuştur (Boran ve diğ., 2018).



Şekil 2.5: ABS İle Tedavinin Ardından Yanık Lezyonunun İyileşmesi (Ciftciler ve diğ., 2020).

Antikanser Etkisi: Yapılan birçok çalışmada ABS'nin SAOS-2 osteosarkom hücreleri, kolon CaCo-2 hücreleri, B-CLL ve RAJI tümör hücreleri, melonama hücreleri ve hematopoietik tümör hücreleri üzerinde anti-proliferatif etkilerinin olduğu görülmektedir (Ciftciler ve diğ., 2020).

ABS'nin melanom hücre dizilerinde reaktif oksijen türleri üreterek DNA hasarını, apoptozu ve sitotoksik aktiviteyi indüklerken, lösemi hücrelerinde ise apoptoz stimülasyonunda PAR1 ve p53'ten bağımsız p21 tutulumunu düzenleyerek apoptoza neden olduğu bulunmuştur (Turk ve diğ., 2017; Koçyiğit ve diğ., 2017). |

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 HÜCRE KÜLTÜRÜ

Bu çalışmada insan küçük hücreli dışı akciğer kanseri modeli olarak A549 hücre hattı ve normal insan bronş epiteli modeli olarak da BEAS-2B hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücreler İleri Kanser ve İlaç Biyoteknolojileri Araştırma Laboratuvarı'nda rutin olarak kültüre edilen hücrelerdir. Her iki hücre hattı 100 µg/ml streptomisin (Streptomisin sülfat, İ.E. Ulugay), 100 IU/ml penisilin (Pronapen, Pfizer), Amhotericine B (Sigma), %10 Fetal Sığır Serumumu (FBS, Gibco lab.) içeren pH'sı % 4.4' lük NaHCO₃ ile 7.2' ye ayarlanabilen RPMI-1640 doku kültürü mediumunda yaşatılmaktadır.

3.2 HÜCRELERİN PASAJ İŞLEMİ

A549 ve BEAS-2B hücrelerinin pasaj işlemi, İleri Kanser ve İlaç Biyoteknolojileri Araştırma Laboratuvarı'nda üç günde bir olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin deney öncesindeki durumlarının değerlendirilmesi için invert mikroskop altında morfolojik analizleri yapılmıştır.

3.3 ANKAFERD HEMOSTAT KONSANTRASYONLARININ HAZIRLANMASI

Bu çalışmada kullanılan Ankaferd Hemostat 1 µl/ml, 2 µl/ml, 4 µl/ml konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Konsantrasyonlar hazırlanırken %3 FBS içeren medium kullanılmıştır.

3.4 HÜCRE CANLILIĞI

Ankaferd Hemostat'ın A549 ve BEAS-2B hücre hatları üzerindeki sitotoksitesisi MTT testi kullanılarak belirlenmiştir. Her iki hücre hattı 96 kuyucuk içeren kaplara her bir kuyucukta 15×10^4 hücre olacak şekilde ekim gerçekleştirilmiştir. Hücrelerin yapışması ve yayılması için 24 saat süresince inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda hazırlanan konsantrasyonlar hücrelere uygulanmıştır. Belirli sürelerde yapılan ABS uygulamasının ardından kuyucuklardaki medium çekilerek ve 40 µl MTT (5mg/ml) solüsyonu eklenmiştir. 4 saatlik inkübasyonun ardından ışık mikroskobu altında formazan kristallerinin oluşumu gözlemlendikten sonra MTT içeren kuyucuklara DMSO eklenerek bir gece boyunca bekletilerek formazan kristallerinin çözünmesi

sağlanmıştır. Spektrofotometre cihazı kullanılarak 570 nm dalga boyunda kolorimetrik ölçümler yapılmıştır (μ Quant, Bio-Tek Instruments INC.).

3.5 HÜCRE İNDEKSİ

A549 ve BEAS-2B hücre hatlarında Ankaferd Hemostat'ın sitotoksik etkisini belirlemek için xCELLigence DP (Acea Biosciences, San Diego, CA) kullanılmıştır. İlk olarak 16 kuyucuklu E-Plate'in (Acea Biosciences) her bir kuyucuğuna 100 μ l uygun medium eklenmiş ve background ölçümleri yapılmıştır. Ardından, 100 μ l A549 ve BEAS-2B hücre süspansiyonları E-Plate'lere ekilmiştir. Ekimler her bir kuyucukta A549 hücre hattı için 8000 hücre ve BEAS-2B hattı için 5000 hücre olacak şekilde yapılmıştır. Ekim işleminin sonunda E-Plate'ler 20 dakika süresince steril ortamda oda sıcaklığında bekletilmiş ve daha sonra cihaz içerisindeki istasyonlara yerleştirilerek 37 °C ve %5 CO₂ ortam koşullarında deneye devam edilmiştir. Cihaz her 15 dakikada bir ölçüm yapacak şekilde ayarlanmıştır.

3.6 MİTOTİK İNDEKS

Her iki hücre hattı için 96 kuyucuklu kültür kaplarına her bir kuyucukta 15×10^4 hücre olacak şekilde ekim yapılmıştır. Hücrelerin yapışması ve yayılması için 24 saat süresince inkübe edilmiştir ve optimum konsantrasyonda Ankaferd Hemostat uygulaması yapılmıştır. Deney sürelerinin sonunda ortamdaki medium % 4 formaldehit içeren PBS ile değiştirilerek hücrelerin sabitlenmesi için oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilmiştir. Formaldehit solüsyonunu uzaklaştırıldıktan sonra 3 kez 5'er dakika yıkama tamponu kullanılarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından 20 dakika süresince Quenching Buffer ile inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Quenching Buffer'ın uzaklaştırılmasının ardından 2 kez 5'er dakika yıkama tamponu kullanılarak yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Antikor engelleme tamponu eklenerek oda sıcaklığında 1 saat inkübasyon yapılmıştır. Antikor engelleme tamponunu uzaklaştırılmasının ardından primer antikor eklenmiş ve gece boyunca 4 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Primer antikorun uzaklaştırılmasının ardından sekonder antikor eklenmiş ve 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Sekonder antikor 3 kez 5'er dakika yıkama tamponu kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Ardından kuyulara geliştirme solüsyonu eklenmiştir. Son olarak durdurma solüsyonu eklenmiş ve 655 nm dalga boyu referans alınarak 450 nm'de spektrofotometre ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

3.7 BRDU İŞARETLENME İNDEKSİ

Her iki hücre hattı için 96 kuyucuklu kültür kabının her bir kuyusunda 2×10^4 hücre olacak şekilde ekim yapılmıştır. Hücrelerin yapışması ve yayılması için 24 saat inkübasyondan sonra total hacim 200 μ l olacak şekilde istenilen optimum konsantrasyonda Ankaferd Hemostat uygulaması yapılmıştır. Ankaferd Hemostat eklendikten 3-4 saat sonra BrdU eklenmiş ve ardından deney süresi devam etmiştir. Bu işlem her deney süresi için ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle kit içerisindeki 500 x BrdU'nun 1:500 oranında seyreltik solüsyonu hazırlanmıştır. Bu seyreltilmiş BrdU'dan 20 μ l alınarak deney gruplarının bulunduğu kuyulara eklenmiştir. 24 saat inkübasyona devam edilmiştir. Kuyulardaki medium uzaklaştırılarak her bir kuyuya 200 μ l sabitleme solüsyonu uygulanmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilerek bu sürenin sonunda sabitleme solüsyonu tamamen uzaklaştırılmıştır. Yıkama aşamasında kit içerisinde yer alan 50 x yıkama tamponu, 1:50 oranında seyreltilerek 3 kez yıkama yapılmış, son yıkamadan sonra yıkama tamponu kuyulardan iyice uzaklaştırılmıştır. Her kuyuya 100 μ l Anti-BrdU antikoru eklenerek oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. Yıkama tamponu ile yıkama işlemi tekrarlanmıştır. 2000 x Goat anti-mouse IgG, Peroksidaz konjugatı 1:2000 oranında seyreltilmiş ve milipor filtreden geçirilerek her bir kuyucuğa 100 μ l eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Yıkama tamponu ile yıkama işlemi tekrarlanmıştır. Her kuyuya 100 μ l TMB Peroksidaz Substrat eklenerek karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Kit içerisinde yer alan anti-stop solüsyonundan her kuyuya 100 μ l eklenmiş ve 450-550 nm çift dalga boyunda absorban değerleri ölçülmüştür.

3.8 KASPAZ AKTİVİTESİ

Optimum konsantrasyonda Ankaferd Hemostat'a maruz bırakılan A549 ve BEAS-2B hücre hatlarındaki kaspaz aktivitelerinin ölçülmesi amacı ile kaspaz 3 ve kaspaz 7 kitleri (MILLIPORE CaspaTag Caspase 3, 7 in situ assay kit, Kat. No. APT403) kullanılmıştır. Deney gruplarındaki hücreler 1×10^7 hücre/ml olacak şekilde süspanse edildikten sonra her hücre süspanسیونundan 300 μ l steril tüplere aktarılmıştır. Tüplere taze hazırlanmış 30xFLICA reaktiften 10 μ l eklendikten sonra %5 CO₂ ve 37 °C'de ışık almayacak şekilde 1 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ardından her tüpe 1x yıkama tamponundan 2 ml eklenmiş ve 400 x g' de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant atıldıktan sonra hücreler tekrar yıkama tamponu ile santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Hücreler 400 μ l PBS içerisinde süspanse edilmiştir. Siyah kültür kaplarına her bir hücre süspanسیونundan 100'er μ l konulmuştur.

Deney süresinin ardından, floresans okuyucuda (BIO-TEK FLx800) eksitasyon dalga boyu 490 nm ve emisyon dalga boyu 520 nm' de bir buçuk saat süre ile her 30 dakikada bir ölçüm yapılmıştır.

3.9 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Tüm deney gruplarında uygulanan konsantrasyon ve zamana göre saptanan hücre kinetiği parametreleri kontrole ve birbirlerine göre değerlendirilmiştir. Bu amaçla tüm deney gruplarından saptanan değerlere tek yönlü ANOVA testi uygulanmıştır. Grupların kontrole göre anlamlılıkları DUNNETT'S testi ile grupların birbirleri ile olan anlamlılıkları ise t-testi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirmelerde $p < 0.05$ anlamlılık seviyesi temel alınmıştır.

4. BULGULAR

Bu çalışmada, Hemostatik bir ajan olan Ankaferd hemostatın farklı süre ve konsantrasyonlarda *in vitro* koşullarda kullanımının küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücreleri A549 ve sağlıklı akciğer hücreleri BEAS-2B üzerinde meydana getirdiği antiproliferatif etkiler çoğalma hızı, hücre indeksi, mitotik indeks, BrdU işaretlenme indeksi ve kaspaz aktivitesi parametrelerinin kullanılması ile değerlendirilmiştir.

4.1. ÇOĞALMA HIZI

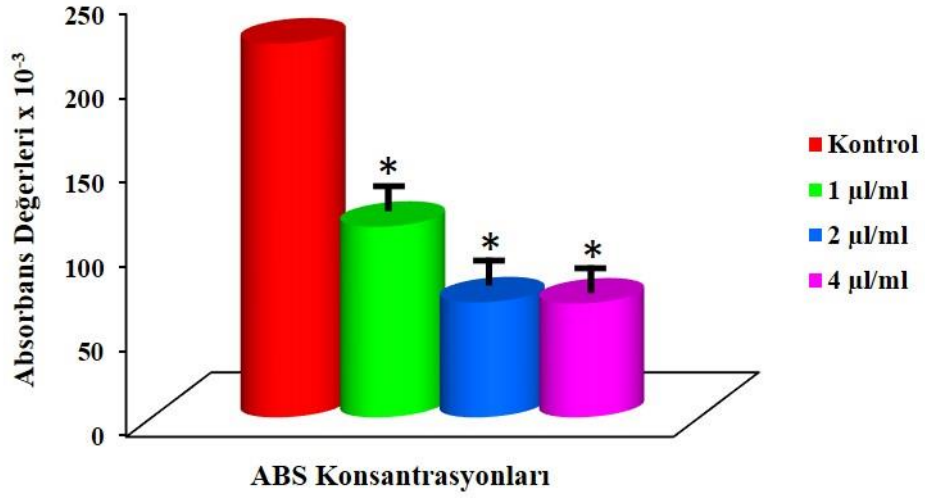
A549 ve BEAS-2B hücre hatları üzerine Ankaferd hemostat (ABS) uygulanması sonucunda hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi üzerine herhangi bir etki gösterip göstermediğinin belirlenmesi amacıyla, kültüre edilen hücelere 24 saat süresince farklı konsantrasyonlarda ABS uygulanmıştır. Her iki hücre hattı için 1 µl/ml, 2 µl/ml ve 4 µl/ml ABS kullanılmıştır. Kontrol grubu ile deney serilerinden elde edilen absorbans değerleri Tablo 4.1 ile Tablo 4.2 ve Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: 24 saat süresince 1 µl/ml, 2 µl/ml ve 4 µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).

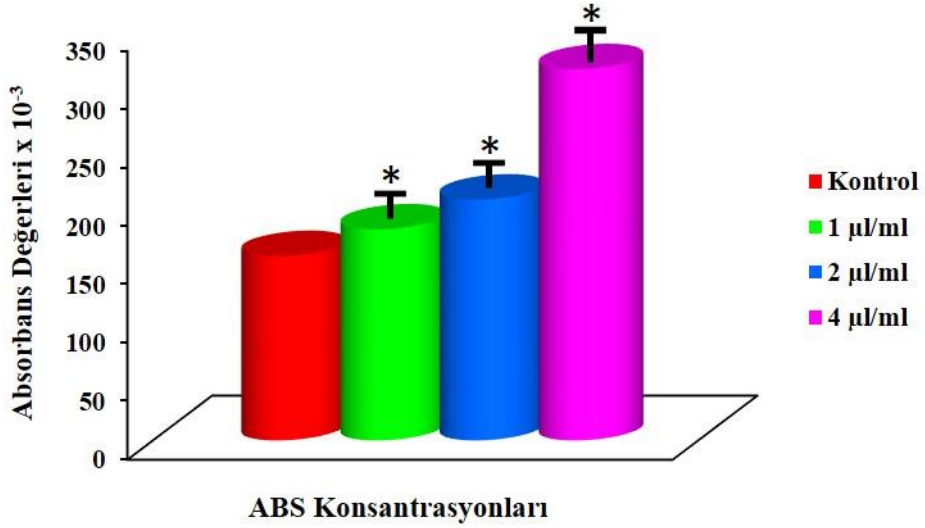
	A549 Hücre Hattı			
Deney Grupları	Kontrol	1 µl/ml	2 µl/ml	4 µl/ml
Absorbans Değerleri x 10 ⁻³	221.1 ±0.012	112,7 ±0.015	68 ±0.014	67,3 ±0.011

Tablo 4.2: 24 saat süresince 1 µl/ml, 2 µl/ml ve 4 µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).

	BEAS-2B Hücre Hattı			
Deney Grupları	Kontrol	1 µl/ml	2 µl/ml	4 µl/ml
Absorbans Değerleri x 10 ⁻³	157.8±0.012	180.6±0.015	206.1±0.014	317.7±0.011



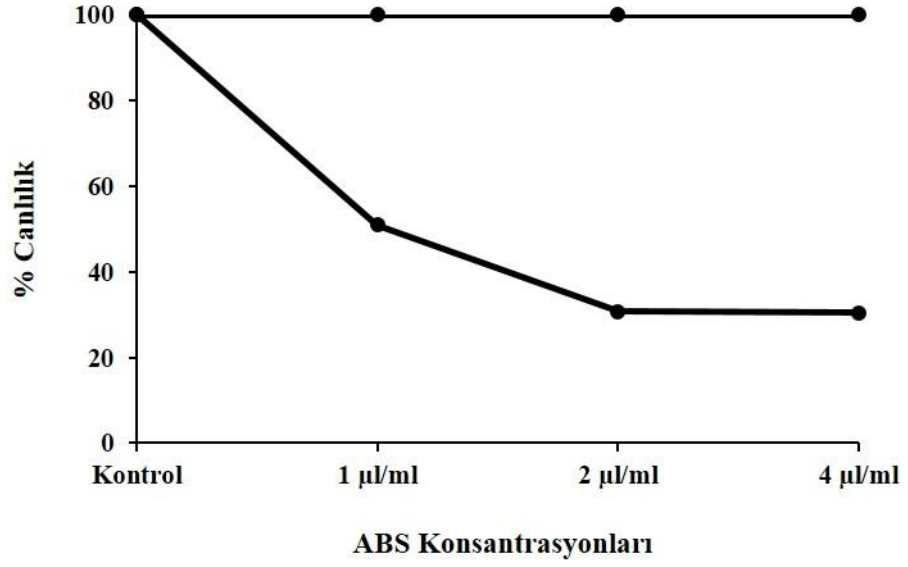
Şekil 4.1: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).



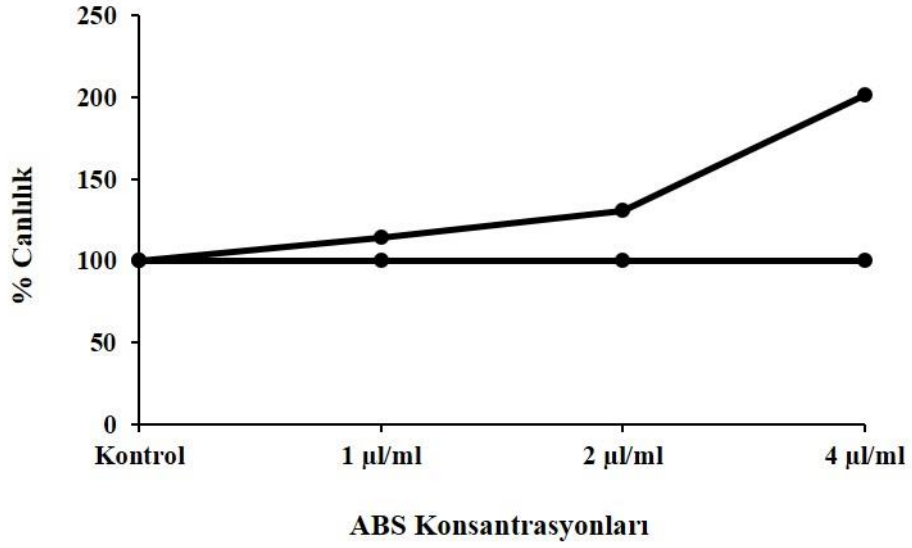
Şekil 4.2: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait mitokondriyal dehidrogenaz enzim aktivitesi değerleri (570 nm).

Bu absorbans değerleri incelendiğinde A549 hücreleri için 1µl/ml ABS konsantrasyonunun hücrelerinin canlılığını %50,97'ye, 2µl/ml ABS konsantrasyonunun hücre canlılığını % 30,75'e ve 4µl/ml ABS konsantrasyonunun ise %30,43'e düşürdüğü gözlenmiştir (Şekil 4.3). BEAS-2B hücreleri için ise bu değerler incelendiğinde %100 kabul edilen kontrol grubuna göre;

1 μ l/ml ABS konsantrasyonunun hücrelerinin canlılığını %114,44'e, 2 μ l/ml ABS konsantrasyonunun hücre canlılığını % 130,6'ya ve 4 μ l/ml ABS konsantrasyonunun ise %201,3'e yükselttiği gözlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.3: 24 saat süresince 1 μ l/ml, 2 μ l/ml ve 4 μ l/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait % canlılık değerleri.

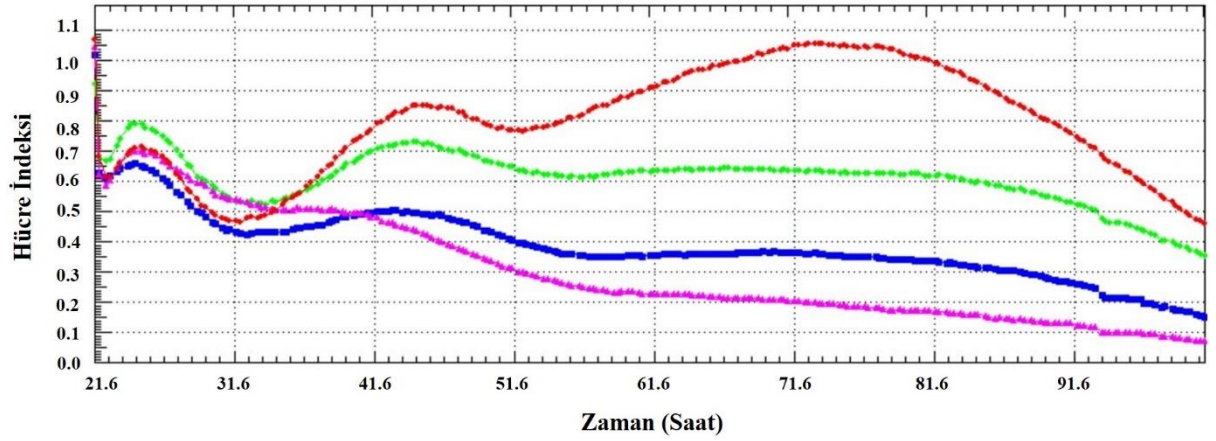


Şekil 4.4: 24 saat süresince 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait % canlılık değerleri.

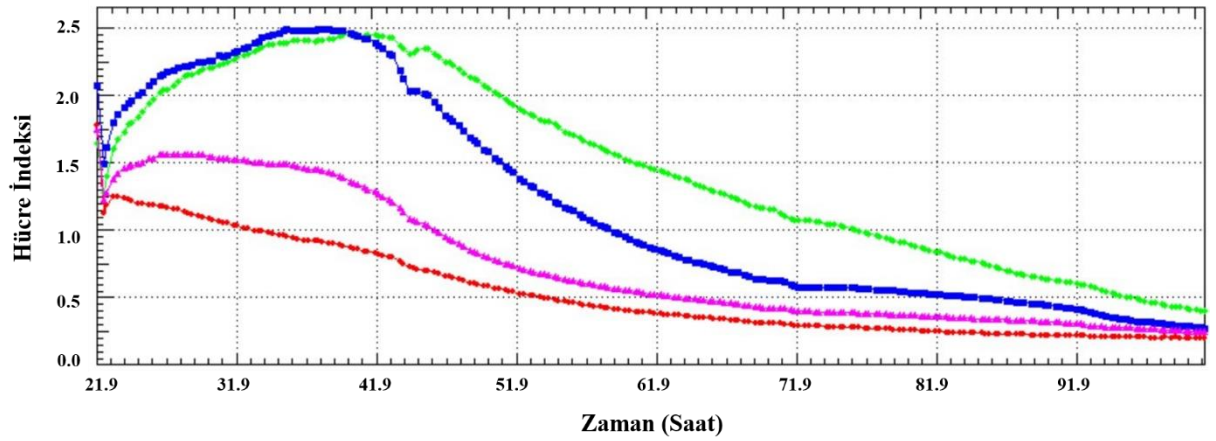
Elde edilen veriler doğrultusunda A549 hücre hattı için 1µl/ml'lik ABS konsantrasyonunun IC₅₀ konsantrasyonu olduğu görülmektedir. BEAS-2B hücre hattı için ise uygulanan hiçbir dozda antiproliferatif etki görülmemiş, aksine ABS'nin hücrelerin proliferasyonunu uyardığı gözlemlenmiştir. Elde edilen bulguların istatistiksel açıdan p<0.05 seviyesinde anlamlı olduğu belirlenmiştir.

4.2. HÜCRE İNDEKSİ

Cihazdan elde edilen hücre indeksi değerleri incelendiğinde A549 hücreleri için uygulanan tüm ABS konsantrasyonlarının (1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml) antiproliferatif etki meydana getirdiği görülmektedir (Şekil 4.5). Buna karşılık BEAS-2B hücrelerine uygulanan ABS konsantrasyonlarının antiproliferatif etki antimitotik etki meydana getirmediği, aksine belirli saat aralıklarında hücre proliferasyonunu arttırdığı gözlenmektedir (Şekil 4.6). A549 hücrelerine ait hücre indeksi grafiğinin eğrileri standart eğrilerle karşılaştırıldığında uygulanan ABS konsantrasyonlarının hücreler üzerinde meydana getirdiği düşünülmektedir.



Şekil 4.5: 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen hücre indeksi grafiği (---Kontrol, ---1µl/ml, ---2µl/ml, ---4µl/ml).



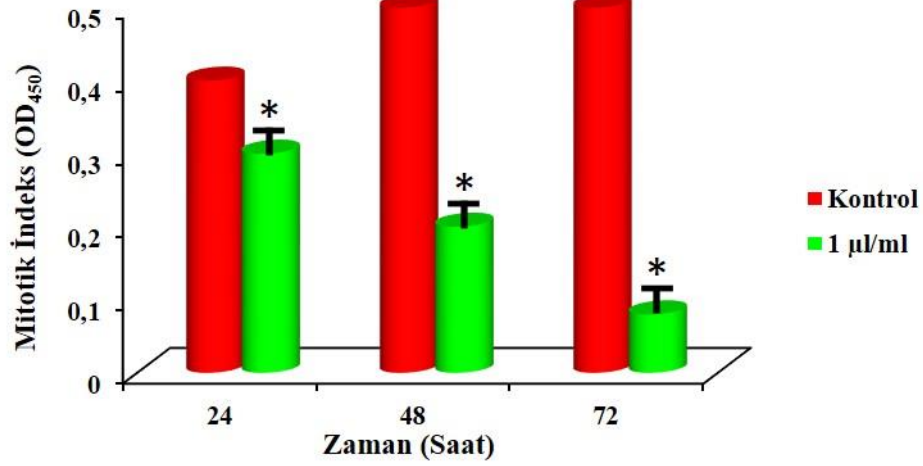
Şekil 4.6: 1µl/ml, 2µl/ml ve 4µl/ml konsantrasyonlarda ABS uygulanan BEAS-2B hücrelerine ait gerçek zamanlı hücre analiz sisteminden elde edilen hücre indeksi grafiği (---Kontrol, ---1µl/ml, ---2µl/ml, ---4µl/ml).

4.3. MİTOTİK İNDEKS

ABS'nin A549 hücrelerinin mitoz indeksi değerlerinde meydana getirdiği değişikliklerin belirlenmesi amacıyla 0-72 saat süresince kültüre edilen hücelere 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanmıştır. Kontrol ve deney grubuna ait mitotik indeks değerleri Tablo 4.3'te gösterilmiştir. ABS'nin A549 hücrelerine 1µl/ml konsantrasyonda uygulaması sonucunda zamana bağlı olarak hücrelerin mitotik indeks değerlerinde anlamlı ölçüde düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.7).

Tablo 4.3: 0-72 saat süresince 1 µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait mitotik indeks değerleri (450 nm) (* Kontrolle göre anlamlı p<0.05).

	Mitotik İndeks (OD ₄₅₀)		
	Zaman (Saat)		
Deney Grupları	24	48	72
Kontrol	0.4±0.04	0.5±0.02	0.5±0.03
1 µl/ml	0.3±0.02	0.02±0.03	0,08±0.02



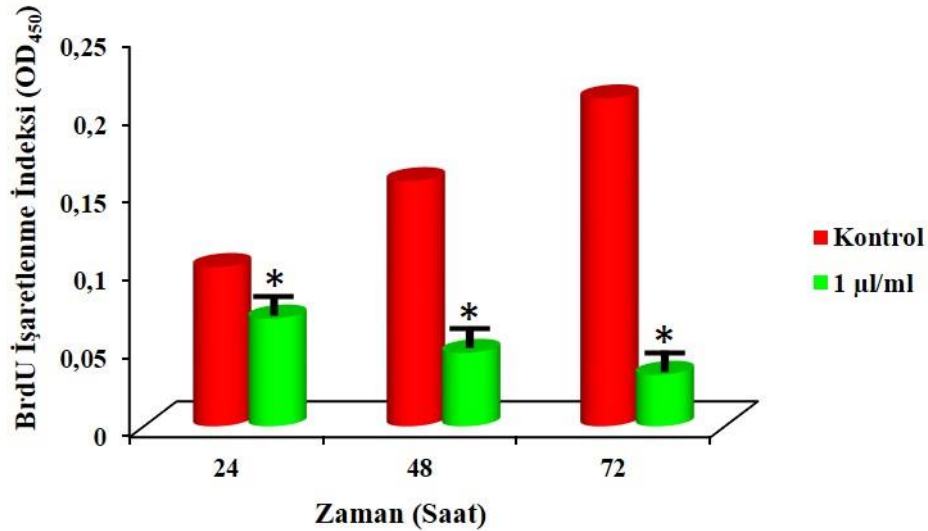
Şekil 4.7: 0-72 saat süresince 1 µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait mitotik indeks değerleri (450 nm).

4.4. BRDU İŞARETLENME İNDEKSİ

ABS'nin A549 hücre hattında hücre siklusunun sentez fazında meydana getirdiği değişikliklerin belirlenmesi amacıyla 0-72 saat süresince kültüre edilen hücrelere 1 μ l/ml konsantrasyonda ABS uygulanmıştır. Kontrol ve deney grubuna ait BrdU işaretlenme indeksi değerleri Tablo 4.4'te gösterilmiştir. ABS'nin A549 hücrelerine 1 μ l/ml konsantrasyonda uygulaması sonucunda zamana bağlı olarak hücrelerin BrdU işaretlenme indeksi değerlerinde anlamlı ölçüde düşüş olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.8).

Tablo 4.4: 0-72 saat süresince 1 μ l/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait BrdU işaretlenme indeksi değerleri (450 nm).

	BrdU İşaretlenme İndeksi (OD ₄₅₀)		
	Zaman (Saat)		
Deney Grupları	24	48	72
Kontrol	0.102 \pm 0.002	0.157 \pm 0.002	0.21 \pm 0.003
1 μ l/ml	0.069 \pm 0.001	0.047 \pm 0.001	0,033 \pm 0.002



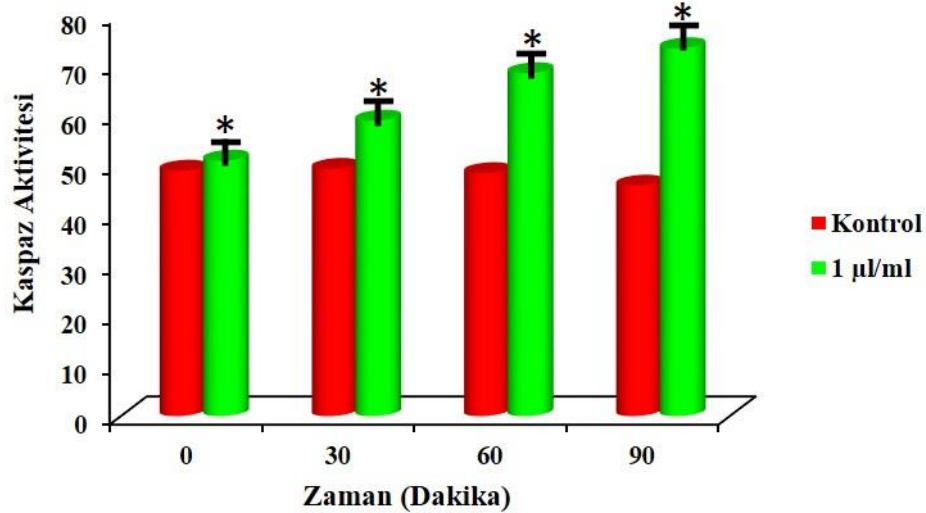
Şekil 4.8: 0-72 saat süresince 1 μ l/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait BrdU işaretlenme indeksi değerleri (450 nm).

4.5. KASPAZ AKTİVİTESİ

ABS'nin A549 hücre hattının kaspaz aktivitesinde meydana getirdiği değişikliklerin belirlenmesi amacıyla 0-90 dakika süresince kültüre edilen hücelere 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanmıştır. Kontrol ve deney grubuna ait kaspaz aktivitesi değerleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir. ABS'nin A549 hücrelerine 1µl/ml konsantrasyonda uygulaması sonucunda zamana bağlı olarak hücrelerin kaspaz aktivitesi değerlerinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9).

Tablo 4.5: 0-90 dakika süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait kaspaz aktivitesi değerleri.

	Kaspaz 3, 7 Aktivitesi			
	Zaman (Dakika)			
Deney Grupları	0	30	60	90
Kontrol	49.00±0.75	49.35±0.50	48.50±1.00	46.00±0.50
1µl/ml	51.00±1.50	58.98±1.50	68.46±2.00	73.43±1.50



Şekil 4.9: 0-90 dakika süresince 1µl/ml konsantrasyonda ABS uygulanan A549 hücrelerine ait kaspaz aktivitesi değerleri. |

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Akciğer kanseri Dünya’da hem kadınlarda hem de erkeklerde kansere bağlı ölümler arasında ilk sırada yer almaktadır. Her yıl ortalama olarak 1.8 milyon yeni akciğer kanseri tanısı konmaktadır. Akciğer kanseri vakalarının büyük bir kısmına ileri evrede tanı konabilmektedir. Hastalığın daha erken evrelerde tanısının konabilmesi için yeni tanı yöntemleri ve sağ kalımı uzatmak, hayat kalitesini artırmak için ise yeni tedavi yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (Yılmaz, 2018).

Akciğer kanseri; temelde küçük hücreli dışı akciğer kanserleri ve büyük hücreli karsinom olarak iki sınıfa ayrılmakta ve tüm akciğer kanserlerinin yaklaşık %83’ünü küçük hücreli dışı akciğer kanseri oluşturmaktadır (Goldstraw ve diğ., 2007). Akciğer kanserinde farklı tedavi yaklaşımları kullanılmaktadır. Hastalığın seyrine göre sadece cerrahi, sadece radyoterapi, kombine tedavi ve destek tedavi uygulamaları yapılmaktadır (Groome ve diğ., 2007).

Bu tez çalışmasında *in vitro* koşullarda küçük hücreli dışı akciğer kanseri modeli olarak A549 hücre hattı ve normal akciğer modeli olarak BEAS-2B hücre hattı kullanılarak bitkisel bir formülasyon olan kan durdurucu Ankaferd hemostatın bu hücreler üzerindeki antiproliferatif etkinliği farklı hücre kinetiği parametreleri kullanılarak belirlenmiştir.

Hemostatik bir ajan olan Ankaferd hemostat (Ankaferd kan durdurucu, ABS) *Tymus vulgaris*, *Urtica dioica*, *Vitis vinifera*, *Glycyrrhiza glabra* ve *Alpinia officinarum* bitki özlerini standardize edilmiş bir karışımından oluşmaktadır. ABS’nin içeriğinde bulunan her bir bitkinin endotel hücreleri ile kan hücreleri hücre proliferasyonu, anjiyogenez, vasküler dinamikler ve/veya hücre mediyatörleri üzerinde etkileri olduğu bilinmektedir (Koluman ve diğ., 2016).

ABS, endemik geleneksel bir formülasyondur ve Anadolu’da yaygın olarak kullanılmaktadır. ABS'nin ana terapötik etkisi, protein ağını düzenleyerek hemostatik aktivite göstermesidir. Eritroid proteinlerinin (ankirin, spektrin ve aktin) ABS ile uyarılan modülasyonu, fibrinojen gama üzerinde etki ederek hayati eritroid agregasyonuna yol açabilir. Randomize klinik çalışmalar, klinik kanamalarda ABS'nin etkinliğini ve güvenliğini ortaya koymuştur (Haznedaroglu ve diğ., 2012).

ABS, travmatik kesiler, diş operasyonları, spontan veya cerrahi müdahaleler sonrası minör ve majör kanamaları durdurmak için kullanılan tıbbi bir ürün olmasına rağmen, hücreler üzerinde genotoksik, sitotoksik ve apoptotik etkileri olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Mumcuoglu ve diğ., 2015; Kocyigit ve diğ., 2017; Aktaş ve diğ., 2014). Son yıllarda ABS'nin antimikrobiyal ve antineoplastik etkilerini gözlemek için yapılan çeşitli çalışmalar büyük ilgi görmektedir (Turk ve diğ., 2017; Akalin ve diğ., 2014; Çiftçiler ve diğ., 2019).

Bir antikanser ilacın sahip olması gereken özelliği, kanser hücrelerini öldürme yeteneğine sahip olması ve normal hücrelere zarar vermemesi olduğundan, antikanser ilaçlarının üretiminde doğal ürünler yaygın olarak tercih edilmektedir. ABS'nin kanser hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azaltabildiği, bun karşılık normal hücreler üzerinde sitotoksik özelliklere sahip olmadığı bildirilmektedir (Isler ve diğ., 2010).

Elde edilen sonuçlar ABS'nin son derece etkili ve kanser tedavisi için yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. ABS'nin kanser hücrelerinde ROS üretimi oluşturarak DNA hasarına neden olduğu ve ABS'nin antiproliferatif etkilerinin, prooksidan aktivitesine bağlı olabileceği düşünölmektedir (Koçyigit ve diğ., 2017).

ABS'nin farklı konsantrasyonlarının kullanıldığı doza bağımlı çalışmalar, ABS'nin Saos-2 kanser hücrelerinin invazyonunu engellediğini göstermiştir. Ayrıca, insan kolon Caco-2 hücrelerinin üremesinin inhibisyonu ve azalan canlılığının, *in vitro* uygulanan ABS konsantrasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Hücre invazyonu da doza bağlı bir şekilde inhibe olmuştur. ABS'ye maruz kalan Caco-2 hücrelerinin *in vitro* olarak yapışkan özelliklerini ve dolayısıyla canlılıklarını kaybettikleri gözlenmiştir (Akalin ve diğ., 2014). Başka bir çalışmada ise ABS'nin Caco-2 ve HepG-2 hücrelerinde demirle düzenlenen genlerin mRNA ekspresyonunu etkilediği belirtilmiştir (Gulec ve Gulec, 2017).

ABS'nin antianjiyogenik etkilerini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Tümör geliştikçe difüzyon yoluyla beslenmeyi sağlar. Ancak tümörün boyutu 2 mm²'ye ulaştıktan sonra beslenmeye devam etmek için çeşitli faktörleri serbest bırakarak endotel hücrelerini uyarır. Daha sonra endotel hücreleri bir araya gelerek damar yapısını oluşturmaya başlar. Yapılan bir çalışmada ABS uygulamasının tümör vaskülarizasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Turhan ve diğ., 2009).

ABS'nin miyelom hücre hattı ve Balb/c farelerinde plazmositoma gelişimi üzerindeki antineoplastik etkileri, *in vitro* intraperitoneal preterm enjeksiyon ile araştırılmıştır. ABS'nin MM hücre hatlarına karşı sitotoksitesisi 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür-boya indirgeme deneyi ile belirlenmiştir (Avcu ve diğ., 2014).

ABS, özellikle hücre metabolizması ve hücre döngüsü mekanizmasını etkilemekte, dolayısıyla kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etkiler göstermektedir. ABS; SND1, KPNA2 ve PARK7 gibi kanser tedavisi üzerindeki potansiyel hedefleri etkilemektedir. Diğer bir önemli sonuç, tümör baskılayıcı proteinler UCHL1 ve RPL5'in önceden düzenlenmesidir. Özellikle RPL5, p53 apoptotik yolunu doğrudan aktive etmekte ve apoptoza neden olmaktadır (Koçak ve diğ., 2019).

ABS'nin kolon kanserinde antineoplastik etkileri gösterilmiştir (Koçak ve diğ., 2019). Kolon kanseri karaciğer metastazları ve hepatosellüler kanser hastalarında, ABS'nin gelecekte klinik uygulamalarda girişimsel radyoloji teknikleri ile tümör ablasyon tedavisinde uygulanabileceği düşünülmektedir. Mevcut teknikte tümör embolizörü olarak alkol, N-butil-2-siyanoakrilat ve kostik maddeler kullanılmaktadır. Klinik pratikte kolon kanseri karaciğer metastazları ve hepatosellüler kanser hastalarında ABS palyatif olarak kullanılabilir, solid tümörlerin tedavisi için girişimsel radyoloji teknikleri aracılığıyla adjuvan, neo-adjuvan veya destekleyici kullanımı mümkün olabilir (Çiftçiler ve Haznedaroğlu, 2020).

Aslında ABS'nin antineoplastik etkisi beklenmedik bir bulgu değildir. Çünkü ABS dört farklı bitkinin standardize edilmiş bir şeklidir. Sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC/MS) ile yapılan çalışmalar ABS'nin antioksidan içeriğini göstermiştir (Koluman ve diğ., 2016).

ABS; tokotrienoller, E vitamini, triptofan, estriol, galangin, apigenin, oenin, 3,4-divanillyltetrahidrofuran, TBHQ, timol, BHA, BHT, likopen, glisirretinik asit ve tomatin içermektedir. Bu antioksidanların çoğu antikanser etkilere sahiptir ve ayrıca ABS içindeki bu maddeler neoplastik hücreler üzerinde sinerjik etkiler gösterebilmektedirler. Ayrıca ABS'nin biyoaktif bileşikleri protein düzeyinde de araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda ABS'nin önemli antineoplastik biyoaktif proteinler içerdiği gösterilmiş ve bu proteinlerin tümörler üzerinde çok önemli etki şekli olduğu tartışılmıştır (Demiralp ve diğ., 2010).

ABS'nin antineoplastik etkisine ilişkin her geçen gün yeni veriler elde edilmektedir. Bununla birlikte, kanser hücreleri üzerindeki etki mekanizmasını tam olarak aydınlatılamamıştır. Daha

önce açıklandığı gibi ABS, birçok biyoaktif madde içerir ve bu farmakobiyolojik özelliğinden dolayı ABS'nin farklı hedeflerle çeşitli hücrel süreçleri indükleyebilmesi beklenmektedir. Antineoplastik etkisinin yanı sıra, son çalışmalar ABS'nin toksik olmayan bir bitki karışımı olduğunu göstermiştir. Toksik olmayan özelliği kanser hastalarında gıda maddesi olarak güvenle kullanılmasını sağlar (Bilgili ve diğ., 2010) .

ABS'nin küçük hücreli dışı akciğer kanseri hücreleri üzerinde meydana getirdiği antiproliferatif etkilerin araştırıldığı bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ABS'nin A549 hücre hattında hücre canlılığı, hücre indeksi, mitotik indeks ve BrdU işaretlenme indeksi parametrelerinde anlamlı bir düşüşe neden olurken kaspaz aktivitesinde anlamlı bir yükselişe neden olduğu gösterilmiştir. Buna karşılık ABS, normal akciğer hücresi BEAS-2B hücre hattında antiproliferatif etki göstermemiştir. Elde edilen bu sonuçlar, ABS'nin kanser hücrelerinin çoğalmasını inhibe ederken normal hücrelere etki etmemesi ile kanser hastalığının tedavi protokollerinde kullanılabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- Abbas, Z., Rehman, S., 2008 An Overview of cancer treatment modalities, *Neoplasms*, 1, 139-157.
- Akalın, I., Okur, F. V., Haznedaroglu, İ. C., Sayinalp, N., Aksu, S., Buyukasik, Y., Goker, H., 2014, Acute in vitro effects of ABS (Ankaferd Hemostat) on the lymphoid neoplastic cells (B-CLL and RAJI tumor cell lines), *International journal of hematology and oncology*, 24, 4.
- Akkoç, A. N., Toplu, N., 2016, Kanser kök hücresi, *Animal health production and hygiene*, 5(1), 416-422.
- Aktaş, B., Başar, Ö., Yılmaz, B., Ekiz, F., Altınbaş, A., Çoban, Ş., Delibaşı, T., 2014, Serum m30 and m65 levels and effects of ankaferd blood stopper in cerulein induced experimental acute pancreatitis model in rats, *International journal of clinical and experimental medicine*, 7(7), 1676.
- Albayrak, C. U., Calişkan, U., Haznedaroglu, I. C., Goker, H., 2008, Haemostatic actions of the folkloric medicinal plant extract Ankaferd Blood Stopper, *J Int Med Res*, 36, 163-170.
- Alberg, A. J., Ford, J. G., Samet, J. M., 2007, Epidemiology of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines, *Chest*, 132(3), 29-55.
- Alberg, A. J., Samet, J. M., 2003, Epidemiology of lung cancer. *Chest*, 123(1), 21-49.
- Alberg, A. J., Yung, R. C., Strickland, P., Nelson, J., 2002, Respiratory cancer and exposure to arsenic, chromium, nickel, and polycyclic aromatic hydrocarbons, *Clinics in occupational and environmental medicine*, 2(4), 779-801.
- Aldington, S., Harwood, M., Cox, B., Weatherall, M., Beckert, L., Hansell, A., Beasley, R., 2008, Cannabis use and risk of lung cancer: a case-control study, *European respiratory journal*, 31(2), 280-286.

- Ataman, M. B., Bucak, M. N., & Çoyan, K., 2014, Esterified glucomannan improves aflatoxin-induced damage of sperm parameters during liquid storage of ram semen at 5 C, *Cryobiology*, 68(3), 405-410.
- Avcu, F., Guner, M., Misirci, M., Elci, P., Safali, M., Goker, H., Haznedaroglu, I. C., 2014, Evaluation of anti-neoplastic effects of a new hemostatic agent ankaferd blood stopper on myeloma cell line and plasmocytoma development in balb/c mice: results of the first in vitro and in vivo study, *Blood*, 124(21), 5728.
- Ayla, Ş., Öktem, G., Tanrıverdi, G., Bilir, A., 2013, Kanser kök hücresi, *Zeynep kamil tip bülteni*, 44(4), 190-196.
- Aysan, E., Bektas, H., Ersoz, F., Sari, S., Kaygusuz, A., Huq, G. E., 2010, Ability of the ankaferd blood stopper® to prevent parenchymal bleeding in an experimental hepatic trauma model, *International journal of clinical and experimental medicine*, 3(3), 186.
- Balta, B. Z., Üre, Ö. S., Erturan, S., Aydın, G., 2013, İleri evre küçük hücreli dışı akciğer kanserinde prognostik faktörler, *Medical bulletin of haseki/haseki tip bulteni*, 51(2).
- Baskar, R., Lee, K. A., Yeo, R., & Yeoh, K. W., 2012, Cancer and radiation therapy: current advances and future directions, *International journal of medical sciences*, 9(3), 193.
- Baykara, O., 2016, Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar, *Balıkesir sağlık bilimleri dergisi*, 5(3), 154-165.
- Behdarvand, A., Zamani, M. S., Sadeghi, F., Yahyapour, Y., Vaziri, F., Jamnani, F. R., Siadat, S. D., 2017, Evaluation of merkel cell polyomavirus in non-small cell lung cancer and adjacent normal cells, *Microbial pathogenesis*, 108, 21-26.
- Bergers, G., Benjamin, L. E., 2003, Tumorigenesis and the angiogenic switch, *Nature reviews cancer*, 3(6), 401-410.
- Bettmann, O., 1956, 17th century surgeons operate for cancer, a pictorial history of medicine.

- Beyazit, Y., Kekilli, M., Haznedaroglu, I. C., Kayacetin, E., Basaranoglu, M., 2011, Ankaferd hemostat in the management of gastrointestinal hemorrhages, *World journal of gastroenterology: wjg*, 17(35), 3962.
- Beyazit, Y., Kurt, M., Kekilli, M., Goker, H., Haznedaroglu, I. C., 2010, Evaluation of hemostatic effects of ankaferd as an alternative medicine, *Altern med rev*, 15(4), 329-336.
- Bilgili, H., Captug, O., Kosar, A., Kurt, M., Kekilli, M., Shorbagi, A., Haznedaroglu, I. C., 2010, Oral systemic administration of ankaferd blood stopper has no short-term toxicity in an in vivo rabbit experimental model, *Clinical and applied thrombosis/hemostasis*, 16(5), 533-536.
- Bilgili, H., Captug, O., Kosar, A., Kurt, M., Kekilli, M., Shorbagi, A., Haznedaroglu, I. C., 2010, Oral systemic administration of ankaferd blood stopper has no short-term toxicity in an in vivo rabbit experimental model, *Clinical and applied thrombosis/hemostasis*, 16(5), 533-536.
- Boran, R., Baygar, T., Saraç, N., Uğur, A., 2018, Ankaferd Blood Stopper with antibiofilm potential successfully inhibits the extracellular matrix degradation enzymes and promotes wound healing of 3T3 fibroblasts in vitro, *Turkish journal of medical sciences*, 48(3), 627-634.
- Caballero, B., 2005, *Encyclopedia of human nutrition*, Elsevier.
- Carmeliet, P., Jain, R. K., 2011, Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 473(7347), 298-307.
- Castiglioni, A., 1931, Histoire de la médecine, transi. *Bertrand, J., Paris: Payot*, 418.
- Chopra, A., Sivaraman, K., 2019, Ankaferd blood stopper: A novel hemostatic agent with unique antimicrobial, antineoplastic and regenerative properties, *Journal of research in pharmacy*, 23(5).
- Cicek, Y., Aslan Kosar, P., Ozturk, O., 2018, Molecular genetics of lung cancer, *Eurasian journal of pulmonology*, 20(3), 111.

- Ciftciler, R., Ciftciler, A. E., Malkan, U. Y., Haznedaroglu, I. C., 2020, Pharmacobiological management of hemostasis within clinical backgrounds via ankaferd hemostat (ankaferd blood stopper), *Sage open medicine*, 8, 2050312120907811.
- Ciftciler, R., Haznedaroğlu, İ. C., 2020, Ankaferd hemostat: from molecules to medicine, *Turkish journal of medical sciences*, 50(SI-2), 1739-1750.
- Ciftciler, R., Koluman, A., Haznedaroğlu, İ. C., Akar, N., 2019, Effects of ankaferd hemostat on helicobacter pylori strains and antibiotic resistance, *Turkish journal of medical sciences*, 49(1), 347-355.
- Collins, L. G., Haines, C., Perkel, R., Enck, R. E., 2007, Lung cancer: diagnosis and management, *American family physician*, 75(1), 56-63.
- Cruz, C. S. D., Tanoue, L. T., Matthay, R. A., 2011, Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention, *Clinics in chest medicine*, 32(4), 605-644.
- Çavuşoğlu, K., Arıca, Ş. Ç., & Kurtman, C., 2008, Radyoterapi gören akciğer kanseri hastaların plazma iz element düzeylerindeki değişimin belirlenmesi, *F.Ü. Sağ. Bil. Derg.*, 22 (4), 211-222
- Çınar, Ç., Odabaş, M. E., Akca, G., Işık, B., 2012, Antibacterial effect of a new haemostatic agent on oral microorganisms, *Journal of clinical and experimental dentistry*, 4(3), 151.
- DeBerardinis, R. J., Lum, J. J., Hatzivassiliou, G., Thompson, C. B., 2008, The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation, *Cell metabolism*, 7(1), 11-20.
- Demiralp, D. Ö., Haznedaroglu, I. C., Akar, N., 2010, Functional proteomic analysis of ankaferd (r) blood stopper, *Turk j hematol*, 27, 70-7.
- DeVita, V. T., Chu, E., 2008, A history of cancer chemotherapy, *Cancer research*, 68(21), 8643-8653.
- Dockery, D. W., Pope, C. A., Xu, X., Spengler, J. D., Ware, J. H., Fay, M. E., Speizer, F. E., 1993, An association between air pollution and mortality in six US cities, *New england journal of medicine*, 329(24), 1753-1759.

- Dorai, T., Aggarwal, B. B., 2004, Role of chemopreventive agents in cancer therapy, *Cancer letters*, 215(2), 129-140.
- Ercetin, S., Haznedaroglu, I. C., KURT, M., AKTAS, A., GOKER, H., OZDEMIR, O., FIRAT, H. C., 2010, Safety and efficacy of ankaferd blood stopper in dental surgery, *International journal of hematology and oncology*, 30(4), 001-005.
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., Bray, F., 2021, Cancer statistics for the year 2020: an overview, *International journal of cancer*, 149(4), 778-789.
- Fisgin, N. T., Cayci, Y. T., Coban, A. Y., Ozatli, D., Tanyel, E., Durupinar, B., Tulek, N., 2009, Antimicrobial activity of plant extract ankaferd blood stopper®, *Fitoterapia*, 80(1), 48-50.
- Futreal PA., Kasprzyk A., Birney E., Mullikin JC., Wooster R., Stratton M., 2001, Cancer and genomics, *Nature*, 6822: 850-2
- Goldblum, J. R., Weiss, S. W., Folpe, A. L., 2013, *Enzinger and Weiss's soft tissue tumors E-book*, Elsevier Health Sciences.
- Goldstraw P., Crowley J., Chansky K., 2007, Proposals for the revision of the tnm stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the tnm classification of malignant tumours, *j thorac oncol*, 2,706-14.
- Greenberg, R. A., 2005, Telomeres, crisis and cancer, *Current molecular medicine*, 5(2), 213-218.
- Groome, P. A., Bolejack, V., Crowley, J. J., Kennedy, C., Krasnik, M., Sobin, L. H., 2007, International staging committee ,the iaslc lung cancer staging project: validation of the proposals for revision of the t, n, and m descriptors and consequent stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the tnm classification of malignant tumours. *Journal of thoracic oncology*, 2(8), 694-705.

- Gulec, A., Gulec, S., 2018, Ankaferd influences mRNA expression of iron-regulated genes during iron-deficiency anemia, *Clinical and applied thrombosis/hemostasis*, 24(6), 960-964.
- Gültekin, Z., Pinar, G., Pinar, T., Kiziltan, G., Doğan, N., Algier, L., Özyilkan, Ö., 2008, Akciğer kanserli hastaların yaşam kaliteleri ve sağlık bakım hizmet beklentileri, *International journal of hematology & oncology/uhod: uluslararası hematoloji onkoloji dergisi*, 18(2).
- Hajdu, S. I., 2004, Greco-roman thought about cancer, *Cancer: interdisciplinary international journal of the american cancer society*, 100(10), 2048-2051.
- Hajdu, S. I., 2005, 2000 years of chemotherapy of tumors, *Cancer: interdisciplinary international journal of the american cancer society*, 103(6), 1097-1102.
- Hajdu, S. I., 2011, A note from history: landmarks in history of cancer, *Cancer*, 117(5), 1097-1102.
- Hajdu, S. I., 1979, Tumors of peripheral nerves, *Pathology of soft tissue tumors*, 427-482.
- Hanahan, D., Weinberg, R. A., 2000, The hallmarks of cancer, *Cell*, 100(1), 57-70.
- Hanahan, D., Weinberg, R. A., 2011, Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674.
- Hayırlıdağ, M., 2021, Mısır tıbbının gizemi papirüsler, *Akademik tarih ve araştırmalar dergisi*, 4(4), 68-86.
- Haznedaroglu, B. Z., Beyazit, Y., Walker, S. L., Haznedaroglu, I. C., 2012, Pleiotropic cellular, hemostatic, and biological actions of ankaferd hemostat, *Critical reviews in oncology/hematology*, 83(1), 21-34.
- Haznedaroglu, B. Z., Beyazit, Y., Walker, S. L., Haznedaroglu, I. C., 2012, Pleiotropic cellular, hemostatic, and biological actions of ankaferd hemostat. *Critical reviews in oncology/hematology*, 83(1), 21-34.

- Hendee, W. R., 1992, Estimation of radiation risks: beer v and its significance for medicine, *Jama*, 268(5), 620-624.
- World Health Organization., International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory: cancer today, <https://gco.iarc.fr/today> (Ziyaret Tarihi: 19 Ocak 2022).
- İşler, S. C., Demircan, S., Çakarar, S., Çebi, Z., Keskin, C., Soluk, M., Yüzbaşıoğlu, E., 2010, Effects of folk medicinal plant extract ankaferd blood stopper® on early bone healing, *Journal of applied oral science*, 18, 409-414.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., Forman, D., 2011, Global cancer statistics, *Ca: a cancer journal for clinicians*, 61(2), 69-90.
- Karamanou, M., Androustos, G., Diamantis, A., 2009, Cancer and roman medicine, *J buon*, 14(3), 537-40.
- Karpozilos, A., Pavlidis, N., 2004, The treatment of cancer in greek antiquity, *European journal of cancer*, 40(14), 2033-2040.
- Kılıç, C., 2006, Akciğerlerin Anatomisi. *Journal Of Clinical And Analytical Medicine*.
- Kılıç, N., Cansaran-Duman, D., 2017, Akciğer kanseri tedavisinde farmakogenomik, *Türk hijyen ve deneysel biyoloji derg*, 74(2), 175-184
- Kısaçam, M. A., Temizer Ozan, P. S., 2019, Kanser hücrelerinin metabolik ihtiyaçları ve bağımlılıkları, *Fü sağ. bil. vet. derg*, 31(1), 67-72.
- Kızılcı, S., 1999, Kemoterapi alan kanserli hastalar ve yakınlarının yaşam kalitesini etkileyen faktörler, *Cumhuriyet üniversitesi hemşirelik yüksekokulu dergisi*, 3(2), 18-26.
- Kocyigit, A., Guler, E. M., Haznedaroglu, I. C., Malkan, U. Y., 2017, Ankaferd hemostat induces DNA damage, apoptosis and cytotoxic activity by generating reactive oxygen species in melanoma and normal cell lines, *International journal of clinical and experimental medicine*, 10(2), 2116-2126.
- Kocyigit, A., Guler, E. M., Haznedaroglu, I. C., Malkan, U. Y., 2017, Ankaferd hemostat induces DNA damage, apoptosis and cytotoxic activity by generating reactive oxygen

species in melanoma and normal cell lines, *International journal of clinical and experimental medicine*, 10(2), 2116-2126.

- Koluman, A., Akar, N., Malkan, U. Y., Haznedaroglu, I. C., 2016, Qualitative/chemical analyses of Ankaferd hemostat and its antioxidant content in synthetic gastric fluids, *BioMed research international*, 2016, 8.
- Liaw, Y. P., Ting, T. F., Ho, C. C., Chiou, Z. Y., 2010, Cell type specificity of lung cancer associated with nitric oxide, *Science of the total environment*, 408(21), 4931-4934.
- Mao, Y., Yang, D., He, J., Krasna, M. J., 2016, Epidemiology of lung cancer, *Surgical oncology clinics*, 25(3), 439-445.
- Meric Teker, A., Korkut, A. Y., Kahya, V., Gedikli, O., 2010, Prospective, randomized, controlled clinical trial of Ankaferd Blood Stopper in patients with acute anterior epistaxis, *European archives of oto-rhino-laryngology*, 267(9), 1377-1381.
- Midthum, D. E., 1996, Clinical presentation of lung cancer, *Lung cancer: principles and practice*, 421-435.
- Mornex, J. F., Thivolet, F., Heras, M., Leroux, C., 2003, Pathology of human bronchioloalveolar carcinoma and its relationship to the ovine disease, *Jaagsiekte sheep retrovirus and lung cancer*, 225-248.
- Mumcuoglu, M., Akin, D. F., Ezer, U., Akar, N., 2015, Ankaferd blood stopper induces apoptosis and regulates par1 and epcr expression in human leukemia cells, *Egyptian journal of medical human genetics*, 16(1), 19-27.
- Nowak, A. K., Lake, R. A., Robinson, B. W., 2006, Combined chemoimmunotherapy of solid tumours: improving vaccines?, *Advanced drug delivery reviews*, 58(8), 975-990.
- Ozel-Demiralp, D., İğci, N., Ayhan, B., Eğin, Y., Haznedaroglu, I. C., Akar, N., 2012, Prohemostatic and antithrombin activities of ankaferd hemostat are linked to fibrinogen gamma chain and prothrombin by functional proteomic analyses, *Clinical and applied thrombosis/hemostasis*, 18(6), 604-610.

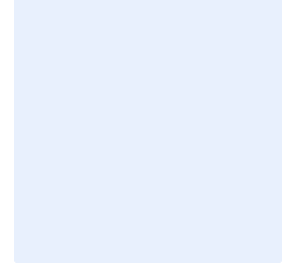
- Ozverel, C. S., Karaboz, İ., Nalbantsoy, A., 2017, Novel treatment strategies in cancer immunotherapy, *Acta biologica turcica*, 30(2), 36-51.
- Patz Jr, E. F., 2000, Imaging bronchogenic carcinoma, *Chest*, 117(4), 90-95.
- Pawel, D. J., Puskin, J. S., 2004, The US Environmental Protection Agency's assessment of risks from indoor radon, *Health physics*, 87(1), 68-74.
- Peto, R. R. J. M., Doll, R., Buckley, J. D., Sporn, M. B., 1981, Can dietary beta-carotene materially reduce human cancer rates?, *Nature*, 290(5803), 201-208.
- Peto, R., 1986, Influence of dose and duration of smoking on lung cancer rates, *IARC scientific publications*, (74), 23-33.
- Raaschou-Nielsen, O., Bak, H., Sørensen, M., Jensen, S. S., Ketznel, M., Hvidberg, M., Loft, S., 2010, Air pollution from traffic and risk for lung cancer in three Danish cohorts, *Cancer epidemiology and prevention biomarkers*, 19(5), 1284-1291.
- Rami-Porta, R., Crowley, J. J., Goldstraw, P., 2009, Review the revised TNM staging system for lung cancer, *Ann thorac cardiovasc surg*, 15(1), 5.
- Retief, F. P., Cilliers, L., 2001, Tumours and cancers in graeco-roman times, *South african medical journal*, 91(4), 344-348.
- Retsas, S., Kardamakis, D., 1986, *Palaeo-oncology*, The antiquity of cancer, Farrand Press, Athens.
- Sheela, M. L., Ramakrishna, M. K., Salimath, B. P., 2006, Angiogenic and proliferative effects of the cytokine vegf in ehrlich ascites tumor cells is inhibited by glycyrrhiza glabra, *International immunopharmacology*, 6(3), 494-498.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Jemal, A., 2019, Cancer statistics, 2019, *CA: a cancer journal for clinicians*, 69 (1), 7-34.
- Sigerist, H. E., 1960, *On the History of Medicine: Edited...* MD publications, New York

- Steenland, K., Loomis, D., Shy, C., Simonsen, N., 1996, Review of occupational lung carcinogens, *American journal of industrial medicine*, 29(5), 474-490.
- Thorwald, J., 1962, Histoire de la médecine dans l'antiquité, In *Histoire de la médecine dans l'antiquité*, 329-329.
- Travis, W. D., 2012, Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas, *Modern pathology*, 25(1), 18-30.
- Travis, W. D., Brambilla, E., Burke, A. P., Marx, A., Nicholson, A. G., 2015, Introduction to the 2015 world health organization classification of tumors of the lung, pleura, thymus, and heart, *Journal of thoracic oncology*, 10(9), 1240-1242.
- Travis, W. D., Brambilla, E., Muller-Hermelink, H. K., Harris, C. C., 2004, World health organization classification of tumours, *Pathology and genetics of tumours of the lung, pleura, thymus and heart*, 10, 179-84.
- Travis, W. D., Brambilla, E., Nicholson, A. G., Yatabe, Y., Austin, J. H., Beasley, M. B., Wistuba, I., 2015, The 2015 world health organization classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 classification, *Journal of thoracic oncology*, 10(9), 1243-1260.
- Turhan, N., Kurt, M., Shorbagi, A., Akdogan, M., Haznedaroglu, I. C., 2009, Topical ankaferd blood stopper administration to bleeding gastrointestinal carcinomas decreases tumor vascularization, *Official journal of the american college of gastroenterology/ACG*, 104(11), 2874-2877.
- Turk, S., Malkan, U. Y., Ghasemi, M., Hocaoglu, H., Mutlu, D., Gunes, G., Haznedaroglu, I. C., 2017, Growth inhibitory activity of ankaferd hemostat on primary melanoma cells and cell lines, *Sage open medicine*, 5, 2050312116689519.
- Turk, S., Malkan, U. Y., Ghasemi, M., Hocaoglu, H., Mutlu, D., Gunes, G., Haznedaroglu, I. C., 2017, Growth inhibitory activity of Ankaferd hemostat on primary melanoma cells and cell lines, *Sage open medicine*, 5, 2050312116689519.

- Ünsal, D., Tunç, E., Pak, Y., 2006, Rektal kanser tanılı olgularda adjuvant tedavinin uzun dönem yaşam kalitesi üzerine etkisi, *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 16(3), 108-120.
- Van Schil, P. E., Balduyck, B., De Waele, M., Hendriks, J. M., Hertoghs, M., Lauwers, P., 2013, Surgical treatment of early-stage non-small-cell lung cancer, *European journal of cancer supplements*, 11(2), 110-122.
- Van Zijl, F., Krupitza, G., Mikulits, W., 2011, Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration, *Mutation research/reviews in mutation research*, 728(1-2), 23-34.
- Wagner, A., Ploder, O., Enislidis, G., Truppe, M., Ewers, R., 1995, Virtual image guided navigation in tumor surgery—technical innovation, *Journal of cranio-maxillofacial surgery*, 23(5), 271-273.
- Wahbah, M., Boroumand, N., Castro, C., El-Zeky, F., Eltorkey, M., 2007, Changing trends in the distribution of the histologic types of lung cancer: a review of 4,439 cases, *Annals of diagnostic pathology*, 11(2), 89-96.
- Wang, J. J., Lei, K. F., Han, F., 2018, Tumor microenvironment: recent advances in various cancer treatments, *Eur rev med pharmacol sci*, 22(12), 3855-3864.
- Wu, H. C., Chang, D. K., Huang, C. T., 2006, Targeted therapy for cancer, *J cancer mol*, 2(2), 57-66.
- Yener, N. A., Apa, D.D., 2014, Akciğer kanserinde morfolojik tanı ve sınıflama, *Trd sem*, 2, 281-289.
- Yener, N., 1973, Meme kanseri, *Ankara hastanesi derg*, 8(1), 5-13.
- Yılmaz, Ü., 2018, Treatment approaches in lung cancer, *Nukleer tıp seminerleri*, 4(1), 32.
- Yücel, A. H., 2018, *Dere Anatomi Atlası ve Ders Kitabı*,. Akademisyen Kitabevi, Adana. |

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Zeliha KARADAĞ
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokununuz.
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Fırat Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Biyomühendislik
Mezuniyet Yılı	26.05.2017

Yüksek Lisans	
Üniversite	
Enstitü Adı	
Anabilim Dalı	
Programı	