

**T.C**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SELENYUM DİOKSİT VE PAKLİTAKSEL**  
**KOMBİNASYONUNUN MDA-MB-231 MEME KANSERİ**  
**HÜCRE HATTI ÜZERİNE ETKİSİNİN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Hazırlayan**  
**Seda BULUT**

**Danışman**  
**Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge ÖNDER**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Ekim 2022**  
**KAYSERİ**

**T.C**  
**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SELENYUM DİOKSİT VE PAKLİTAKSEL**  
**KOMBİNASYONUNUN MDA-MB-231 MEME KANSERİ**  
**HÜCRE HATTI ÜZERİNE ETKİSİNİN**  
**DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Hazırlayan**  
**Seda BULUT**

**Danışman**  
**Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge ÖNDER**

**Bu çalışma, TYL-2021-11044 no'lu proje kodu ile Erciyes Üniversitesi**  
**Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

**Ekim 2022**  
**KAYSERİ**

## **BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK**

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

**Adı-Soyadı: Seda BULUT**

**İmza:**

## **YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI**

**“Selenyum Dioksit ve Paklitaksel Kombinasyonunun MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücre Hattı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi”** adlı Yüksek Lisans Tezi Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

**Tezi Hazırlayan**

**Seda BULUT**

**Danışman**

**Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge ÖNDER**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı**

**Prof. Dr. Birkan YAKAN**

## KABUL VE ONAY

**Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge ÖNDER** danışmanlığında **Seda BULUT** tarafından hazırlanan ‘**Selenyum Dioksit Ve Paklitaksel Kombinasyonunun Mda-Mb-231 Meme Kanseri Hücre Hattı Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi**’ adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji-Embriyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

...../...../2022

### JÜRİ:

### İmza

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge ÖNDER

Üye: Prof . Dr. Arzu Yay

Üye: Doç. Dr. Işıl AYDEMİR

### ONAY

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

...../...../.....

**Prof . Dr. Bilal AKYÜZ**

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji yüksek lisans hayatım boyunca bilgi, eleştiri ve yardımlarıyla bana destek olan her zaman yol gösterici olan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge Önder'e,

Bana Histoloji ve Embriyoloji'yi sevdiren ve her zaman ışığında olmaktan mutluluk duyduğum Prof. Dr. Arzu Yay'a,

Yüksek lisans sürecimde bana kattığı bilgi birikimi için Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Birkan Yakan'a,

Yüksek lisans tez ve ders aşamasında desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Esra Balcıoğlu'na ve Arş. Gör. Dr. Özge Göktepe'ye,

Tez hazırlık sürecinde her zaman yardımcı ve yanımda olan Demet Bolat ve Pınar Suna'ya,

Lisansüstü eğitimim boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen canım aileme ve bana gülümsemesiyle destek olan canım yeğenim Nazlı'ya,

Eğitim hayatım boyunca benimle birlikte koşturmaktan çekinmeyen, en büyük destekçim Ali Duran'a teşekkür ederim.



Seda Bulut

Kayseri, Ekim 2022

**SELENYUM DİOKSİT VE PAKLİTAKSEL KOMBİNASYONUNUN MDA-MB-231 MEME KANSERİ HÜCRE HATTI ÜZERİNE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Seda BULUT**

**Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi, Ekim 2022**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gözde Özge ÖNDER**

**ÖZET**

Bu çalışmanın amacı bitkisel kökenli bileşik olan selenyum dioksitin(SEL) kemoterapötik ajan paklitaksel(PTX) ile kombine edilerek MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında proliferasyon ve apoptozis üzerine etkisinin belirlenmesidir.

Çalışmada, SEL'in yarı maksimal inhibitör konsantrasyonunu(IC50) belirlemek amacıyla MTT analizi yapıldı. Deney grupları SEL1(24µM), SEL2(12µM), SEL3(6µM), PTX(20nM), SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX şeklinde oluşturuldu. SEL ve PTX ile tedavinin hücrelerde apoptozis mekanizması ve bu mekanizma da düzenleyici olarak rol oynayan transkripsiyon faktörü NF-kB üzerindeki potansiyel etkisini değerlendirmek amacıyla immunofloresan boyama metodu uygulandı.

Çalışmada SEL'in IC50 dozu 12µM-24 saat olarak belirlendi. Apoptozis verilerine göre, SEL1, SEL2, SEL3 ve PTX gruplarında kontrol grubuna göre apoptozisin arttığı belirlendi. SEL ve PTX'in birlikte uygulandığı SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX gruplarında ise apoptozisin yalnız PTX grubuna göre azaldığı dikkati çekti. NF-kB ekspresyonu açısından değerlendirildiğinde SEL1, SEL2, SEL3, PTX gruplarında NF-kB immünreaktivite yoğunluğunda kontrole göre azalma olduğu görüldü. SEL ve PTX'in birlikte uygulandığı SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX gruplarında ise PTX grubuna göre NF-kB ekspresyonunda artış olduğu belirlendi. Hücre canlılığı verilerine göre, SEL ve PTX'in birlikte uygulandığı gruplarda PTX grubuna göre hücre canlılığında bir artış olduğu görüldü.

Mevcut çalışmada SEL ve PTX'in in vitro olarak MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında sitotoksik etkilerinin değerlendirildiği bu çalışmada bu iki maddenin antagonistik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** MDA-MB-231; Meme kanseri; NF-kB; Paklitaksel; Selenyum dioksit; TUNEL.

**EVALUATION OF THE EFFECT OF SELENIUM DIOXIDE AND  
PACLITAXEL COMBINATION ON THE MDA-MB-231 BREAST CANCER  
CELL LINE**

**Seda BULUT**

**Erciyes University, Graduate School of Healthy Sciences Department of  
Histology Embryology**

**M.Sc. Thesis, October 2022**

**Supervisor: Assist. Professor Gzde zge NDER**

**ABSTRACT**

The aim of this study is to determine the effect of the plant-derived compound selenium dioxide(SEL) combined with the chemotherapeutic agent paclitaxel(PTX) on proliferation and apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cell line.

In the study, MTT analysis was performed to determine the semi-maximal inhibitory concentration of SEL. Experimental groups were formed as SEL1(24µM), SEL2(12µM), SEL3(6µM), PTX(20nM), SEL1+PTX, SEL2+PTX and SEL3+PTX. The immunofluorescent staining method was applied to evaluate the mechanism of apoptosis in cells and the potential effect of treatment with SEL and PTX on the transcription factor NF-kB, which plays a regulatory role in this mechanism.

In the study, the IC50 dose of SEL was determined as 12µM–24 hours. According to the apoptosis data, it was determined that apoptosis increased in SEL1, SEL2, SEL3 and PTX groups compared to the control group. It was noted that in the SEL1+PTX, SEL2+PTX and SEL3+PTX groups in which SEL and PTX were administered together, apoptosis was reduced compared to the PTX group alone. When evaluated in terms of NF-kB expression, it was observed that NF-kB immunoreactivity intensity decreased in SEL1, SEL2, SEL3, PTX groups compared to the control. In the SEL1+PTX, SEL2+PTX and SEL3+PTX groups to which SEL and PTX were administered together, there was an increase in NF-kB expression compared to the PTX group. According to the cell viability data, an increase in cell viability was observed in the groups in which SEL and PTX were administered together, compared to the PTX group.

In the current study, in which the cytotoxic effects of SEL and PTX on the MDA-MB-231 breast cancer cell line were evaluated in vitro, it was determined that these two substances had antagonistic effects.

**Keywords:** Breast cancer; MDA-MB-231; NF-kB; Paclitaxel; Selenium dioxide; TUNEL.

## İÇİNDEKİLER

|                                                         |     |
|---------------------------------------------------------|-----|
| İÇ KAPAK.....                                           |     |
| BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....                            | i   |
| YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI.....                           | ii  |
| KABUL VE ONAY .....                                     | iii |
| TEŞEKKÜR.....                                           | iv  |
| ÖZET.....                                               | v   |
| ABSTRACT.....                                           | vi  |
| İÇİNDEKİLER .....                                       | vii |
| KISALTMALAR .....                                       | ix  |
| TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ .....                            | x   |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                  | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....                                 | 4   |
| 2.1. Kanser.....                                        | 4   |
| 2.2. Meme Kanseri .....                                 | 5   |
| 2.3. Meme Kanseri Etiyolojisi.....                      | 5   |
| 2.4. Meme Kanseri Tedavi Yolları.....                   | 6   |
| 2.5. Paklitaksel .....                                  | 7   |
| 2.6. Selenyum Dioksit .....                             | 7   |
| 2.7. Apoptozis .....                                    | 9   |
| 2.8. Nükleer Faktör Kappa Beta NF-kB.....               | 10  |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                                | 12  |
| 3.1. Hücre Kültürü.....                                 | 12  |
| 3.2. Hücrelerin Pasajlanması .....                      | 12  |
| 3.3. Hücrelerin Sayılması .....                         | 13  |
| 3.3.1. Selenyum Dioksitin Hazırlanması .....            | 14  |
| 3.3.2. Paklitaksel Dozunun Belirlenmesi .....           | 14  |
| 3.4. Selenyum Dioksitin IC50 Dozunun Belirlenmesi ..... | 14  |
| 3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması .....              | 15  |
| 3.6. Apoptozis Analizi İçin TUNEL Metodu .....          | 16  |
| 3.7. NF-kB Ekspresyon Analizi .....                     | 16  |

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.8. Selenyum Dioksit ile Paklitaksel Kombine Uygulanmasında Hücre Canlılığının Gösterilmesi ..... | 17 |
| 3.9. İstatistiksel Analiz .....                                                                    | 17 |
| 4. BULGULAR .....                                                                                  | 18 |
| 4.1. Selenyum Dioksitin IC50 Dozunun Belirlenmesi .....                                            | 18 |
| 4.2. Apoptozis Analizi Bulguları.....                                                              | 20 |
| 4.3. NF-kB Bulguları.....                                                                          | 24 |
| 4.4. Selenyum Dioksit ile Paklitaksel'in Kombine Uygulamasında Hücre Canlılığı Bulguları.....      | 27 |
| 5. TARTIŞMA .....                                                                                  | 28 |
| 6.KAYNAKLAR .....                                                                                  | 34 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                     | 48 |
| EKLER                                                                                              |    |
| ÖZGEÇMİŞ                                                                                           |    |

## KISALTMALAR

|                                |                                         |
|--------------------------------|-----------------------------------------|
| <b><math>\mu</math>l</b>       | : Mikro Litre                           |
| <b>dH<sub>2</sub>O</b>         | : Distile Su                            |
| <b>DNA</b>                     | : Deoksiribo Nükleik Asit               |
| <b>RNA</b>                     | : Ribonükleik Asit                      |
| <b>ÖR</b>                      | : Östrojen Reseptörü                    |
| <b>PR</b>                      | : Progesteron Reseptörü                 |
| <b>PTX</b>                     | : Paklitaksel                           |
| <b>NF-<math>\kappa</math>B</b> | : Nükleer Faktör Kappa B                |
| <b>WHO</b>                     | : Dünya Sağlık Örgütü                   |
| <b>KKMM</b>                    | : Kendi Kendine Meme Muayene            |
| <b>Ca</b>                      | : Kalsiyum                              |
| <b>TNF</b>                     | : Tümör Nekroz Faktörü                  |
| <b>FAS</b>                     | : Ölüm Reseptörü                        |
| <b>UV</b>                      | : Ultraviyole                           |
| <b>Na</b>                      | : Sodyum                                |
| <b>K</b>                       | : Potasyum                              |
| <b>Cl</b>                      | : Klor                                  |
| <b>Bcl-2</b>                   | : B hücreli lenfoma 2                   |
| <b>ATCC</b>                    | : Amerikan Tip Kültür Koleksiyon        |
| <b>FBS</b>                     | : Fötal sıgır serumu                    |
| <b>DMEM</b>                    | :Dulbecco'nun konsantre Eagle's Medyumu |
| <b>DMSO</b>                    | : Dimetil Sülfoksit                     |
| <b>Mg</b>                      | : Magnezyum                             |
| <b>PBS</b>                     | : Fosfat tamponlu salin                 |
| <b>CO<sub>2</sub></b>          | : Karbondioksit                         |
| <b>SEL</b>                     | : Selenyum dioksit                      |
| <b>ÖR</b>                      | : Östrojen Reseptörü                    |
| <b>PR</b>                      | : Progesteron Reseptörü                 |
| <b>Se</b>                      | : Selenyum                              |

## TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

|                   |                                                                                                                                                                                                            |                                         |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <b>Şekil 3.1.</b> | Thoma lamının sayım yapılan kareleri.....                                                                                                                                                                  | 14                                      |
| <b>Şekil 4.1.</b> | MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 24 saat selenyum dioksit toksisitesi.....                                                                                                                            | 19                                      |
| <b>Şekil 4.2.</b> | MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 48 saat selenyum dioksit toksisitesi.....                                                                                                                            | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |
| <b>Şekil 4.3.</b> | MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 72 saat selenyum dioksit toksisitesi.....                                                                                                                            | 20                                      |
| <b>Şekil 4.4.</b> | Selenyum dioksit ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına TUNEL görüntüleri. Hücrelerde oluşan apoptotik cisimcikler floresan mikroskopta yeşil yansımalar şeklinde görülmektedir (ok). .... | 21                                      |
| <b>Şekil 4.5.</b> | Selenyum dioksit ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına NF-kB ekspresyonu. Parlak yeşil yansımalar NF-kB ekspresyonunu göstermektedir (ok). ....                                           | 25                                      |
| <b>Şekil 4.6.</b> | Selenyum dioksit ve PTX'in kombine uygulaması sonrasında MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına ait hücre canlılığı. ....                                                                                   | 27                                      |
| <b>Tablo 3.1.</b> | Selenyumun Oksidasyon Durumları ve Selenyum Bileşiklerine Örnekler.....                                                                                                                                    | 8                                       |
| <b>Tablo 4.1.</b> | Selenyum dioksit ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına ait TUNEL istatistiksel analiz sonuçları.....                                                                                      | 23                                      |
| <b>Tablo 4.2.</b> | Selenyum dioksit ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına ait NF-kB ekspresyonu istatistiksel analiz sonuçları Tablo .....                                                                   | 26                                      |

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya nüfusundaki hızlı artış, çeşitli hastalıkları da beraberinde getirmektedir ve bunlardan biri de ölüm oranı çok yüksek olan kanserdir. Bu nedenle, tüm dünya kanser tedavi yöntemleri geliştirmeye yönelik çalışmaları artırmış ve aynı zamanda uygulanan tedavilerin insan sağlığına olan olumsuz etkilerinin en aza indirilmesi amaçlanmıştır. Hem hastalığın ilerlemesini durdurmak hem insan ömrünü uzatıp kaliteli bir yaşam sunmak için geçmişte de bu konu üzerine çalışmalar yapılmıştır. Ancak etken maddeleri kimyasal olan bu ilaçları kullanan hastalarda kanser hücrelerinin yanı sıra normal vücut hücrelerine de zarar verdiği bilinmektedir. Bu yüzden kimyasal kökenli ilaçlarından ziyade doğal olan ve hastaların normal vücut hücrelerine en az zarar verecek maddelere yönelik ilgi artmıştır (Ernst ve ark., 1998).

Önemli sağlık sorunlarından biri olan meme kanseri, tüm dünyada özellikle kadınları etkilemektedir. Günümüzde meme kanserine dair artan bilgiye, teşhis ve tedaviye yönelik gelişen teknolojiye rağmen birçok kişi meme kanserinden dolayı yaşamını yitirmektedir (Gupta ve ark., 2012). Meme kanseri tedavisinde cerrahi tedavinin yanı sıra nüksetme ve metastaz riskini azaltmak için hastanın durumuna göre hormonal tedavi, hedefe yönelik tedaviler, radyasyon tedavisi ve kemoterapi uygulanmaktadır (Hwang ve ark., 2013). Kemoterapi tedavisinde bir ya da birden fazla anti-kanser ilaç kullanılabilir. Kemoterapiden bir hastanın yarar görebilmesi, tümörün boyutu, tümör dokusunda östrojen reseptörü (ÖR) veya progesteron reseptörü (PR) varlığı, etkilenen lenf düğümlerinin sayısı dahil olmak üzere birçok faktöre bağlıdır (Carey ve ark., 2007).

Paklitaksel (PTX), birden fazla kanser tipinin tedavisinde olduğu gibi meme kanseri tedavisinde de sık kullanılan kemoterapotik bir ilaçtır (Karlığa ve Talınlı, 2004).

PTX'in hücre ölümünü apoptozis aracılığıyla yaptığı ve bunun da doz bağımlı olarak gerçekleştiği, düşük dozlarda PTX uygulaması sonucunda hücrelerin G2/M interfaz aşamasında biriktiği ve ölümle sonuçlandığı gösterilmiştir (Jordan ve ark., 1996; Torres ve Horwitz, 1998). Yapılan çalışmalar incelendiğinde PTX'in gastrointestinal toksisite, hipersensitivite, nörotoksisite ve myelosupresif gibi yan etkileri olduğu tespit edilmiştir (Frederiks ve ark., 2015). Bazı vakalarda ise, hücrelerde bir süre sonra PTX'e karşı direnç meydana geldiği gösterilmiştir (Němcová-Fürstová ve ark., 2016). Hem kemoterapotik ilaçların olumsuz etkilerinin azaltılması hem de bu ilaçlara karşı oluşan direncin azaltılması amacıyla son yıllarda kemoterapotik ajanların farklı doğal bileşiklerle kombinasyonu ile kullanımları üzerine çalışmalar artmaya başlamıştır (Chavoshi ve ark., 2017; Chen ve ark., 2016; Jiang ve ark., 2017).

Selenyum (Se) insan sağlığı için esansiyel besin olarak bilinen eser bir elementtir (Wilber, 1980). İmmün fonksiyonları artırması, antioksidan etkisi, hücre proliferasyonunu inhibe etmesi, apoptozisi indüklemesi, karsinojenlerin metabolizmasını azaltması gibi Se'nin çok çeşitli antikanserojenik etkileri vardır (Iglesias ve ark., 2013). Yapılan çalışmalarda, Se bileşenlerinin antikanser aktivitesinin belirlenmesinde uygulanan dozun ve kullanılan Se'nin kimyasal yapısının önemli olduğu gösterilmiştir (Kuppusamy ve ark., 2005). Se'nin doğada organik ve inorganik formları bulunmaktadır. SEL ise, Se'nin inorganik formudur (Evenson ve Sunde 1988; Mahan 1999; Surai 2000; Wolfram 1999;). Meme kanserinde, çeşitli çalışmalarda, Se seviyeleri ile kanser riski ve ölüm oranı arasında ters bir ilişki olduğu söylenmektedir. Ancak Se'nin inorganik formu olan SEL ile yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır (Kuppsamy ve ark., 2005). Kemoterapotik bir ilaç olan Sisplantinin SEL ile kombinasyonunun insan yumurtalık kanseri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, SEL'in sisplatinin tümör büyümesi üzerindeki inhibe edici etkisini artırabildiği ve yumurtalık kanseri ksenograftında sisplatinin ilaç direncini azaltabildiği bulunmuştur (Hu ve ark., 2010). Bu çalışmada da SEL'in PTX ile kombine kullanımının PTX'in kanser hücreleri üzerindeki etkinliğini nasıl değiştirdiği üzerinde durulmuştur. Ancak kullanılan takviye ajanların kemoterapotik ilaçlarla etkileşimi sonucunda tedaviye nasıl bir yön katacağı değişebilmektedir. Dolayısıyla bu durumu açıklamaya yönelik çalışmalar, hücre proliferasyonu ve

ölümünde etkili olan sinyal yollarındaki moleküller hedef alınarak yürütülmelidir.

Apoptozis, normal fizyolojik şartlarda gerçekleşen, hasarlı veya yaşlı hücrelerin programlanmış bir hücre ölüm mekanizmasıdır (Kierszenbaum, 2006). Apoptozis mekanizmasının etkilendiği durumlarda çeşitli hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Apoptozisi anlamak, kanser hücrelerini öldürmede kullanılacak yeni kanser ilaçlarını ya da antioksidanların etkinliğini belirleyebilmek için önem arz etmektedir. Apoptozisin gerçekleşmesi oldukça kompleks bir süreçtir ve bu süreçte çok çeşitli moleküller görev yapmaktadır. Bir transkripsiyon faktörü olan NF-kB bunlardan birisidir (Aggarwal, 2004). NF-kB, inflamasyon, proliferasyon, apoptozis, metastaz, tümör hücrelerinin invazyonu ve anjiyogenez ile ilişkili genleri transaktive etme yoluyla tümörigenezde hayatsal rol oynamaktadır (Orlowski ve Baldwin, 2002). Aynı zamanda tümör hücrelerinin NF-kB inhibisyonu ile kemoterapiye duyarlı bir hale gelebildiği yapılan çalışmalar sonucu saptanmıştır (Rundall ve ark., 2004). NF-kB'nın sürekli olarak inaktif durumda kalması ise apoptozis ve gecikmeli hücre büyümesine neden olduğu bilinmektedir (Baldwin, 1996).

Dolayısıyla bu çalışmada, SEL takviyesinin PTX ile birlikte uygulanmasının MDA-MB-231 meme kanseri hücre dizisinde hücre proliferasyonu, apoptozis mekanizması ile bu süreçte önemli rol oynayan ve bir transkripsiyon faktörü olan NF-kB üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Meme kanserinin görülme sıklığı değerlendirildiğinde, SEL'in PTX tedavisi sırasında kullanımının hücrede apoptozis mekanizmasını nasıl etkileyebileceğinin araştırılmasının hem tedaviye yönelik çalışmalara hem de literatüre katkı sağlayabileceğini ve diğer çalışmalara görüş önerisi oluşturacağını düşünmekteyiz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kanser

Kanserin kelime anlamı olarak kökeni Latince yengeç anlamını taşıyan ‘cancer’ kelimesine dayanmaktadır. Tarihte ilk olarak Yunan bir hekim olan Hipokrat’ın kanserin ilerlediği safhalarda kanserin yakınlarından geçen damar yapılarının tıpkı bir yengecin bacaklarına benzetmesinden dolayı bu kelimeyi kullandığı bilinmektedir (Yarımca ve Durmuş, 2013).

Kanserin önemli bir sağlık problemi olarak görülmesinin nedeni ülkemizde ve dünyamızda ölüm oranlarında ikinci sırada yer almasından kaynaklanmaktadır. Kanseri; hücrelerin apoptozise cevap vermemesi, hücrelerin çoğalmasını engelleyen sinyal alıntılarının duyarsızlaşması ve dış sinyallere ihtiyaç duymadan kontrolsüz çoğalması nedeniyle doku ve organları sarmaktadır. Ardından lenf ve kan sıvıları ile vücuda yayılmaktadır (Cooper, 2000). Kanseri olgularında anormal hücreler hızla çoğalmaya devam ederken aynı zamanda hücre ölümünün gerçekleşmemesi ve immün sistem hücrelerinden kaçabilmeleri nedeniyle tümör adı verilen bir hücre kitlesi oluşmaktadır (Yılmaz ve Altunok, 2011). Benign ve malign olmak üzere tümörler 2 grupta incelenirler. Köken aldığı yerde sınırlı kalan ve vücuda yayılım göstermeyen tümörler benign tümörler olarak adlandırılırlar. Malign tümörler, köken aldığı bölgede kalmayıp lenf ve kan sıvılarıyla vücuda dağılarak yayılım göstermektedir (Cooper, 2000).

Malign ve benign tümör hücreleri kaynaklandıkları yapıya göre sınıflandırılmaktadır. Kas ve bağ dokusu hücrelerinden kaynaklanıyorsa sarkom sınıfına dahil edilir. Epitel hücrelerinden kaynaklanıyorsa karsinom, kan hücrelerinden kaynaklanıyorsa lösemi sınıfına dahil edilmektedir (Alberts ve ark., 2002; Clark, 1991; Yokota, 2000; Yokota ve Kohno, 2004).

## **2.2. Meme Kanseri**

Meme kanseri, memenin karakterize hücrelerinin kontrolsüz ve düzensiz bir şekilde çoğalması ile oluşan hastalıktır. Bu durum dünya üzerinde birçok yerde ölümle sonuçlanmaktadır (Somunoğlu, 2009). Tüm dünyada kadınlarda en sık görülen meme hücrelerinde başlayan bir malignite tipi olup, her yıl 2.1 milyon kadını olumsuz yönde etkilemektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) sonuçlarına göre kadınlarda tümör ilişkili ölüm niceliklerinin yaklaşık %15'inde meme kanseri görülmektedir. Meme kanseri erken dönem teşhisi, tedavi şansını ve yaşama oranını artırmaktadır (Ellis ve ark., 2003).

Meme kanserinin erken teşhis ve tedavi süreci için planlanan KKMM (kendi kendine meme muayenesi) basit, tüm kişiler tarafından uygulanabilen, spesifik araç ve gereç gerektirmeksizin ve herhangi bir maliyet oluşturmaması sebebiyle çok iyi nitelikli bir erken tanı yöntemi olarak kullanılabilir. Yapılan çalışmalarla KKMM düzenli olarak uygulayan kadınların, uygulamayan kadınlara göre meme kanserinin erken dönemde teşhis edebildiğini ortaya çıkarılmıştır (Öztürk ve ark., 2000).

## **2.3. Meme Kanseri Etiyolojisi**

Meme kanserinin etiyolojisi henüz tam olarak bilinmemektedir, ancak genetik, çevresel, hormonal, psikososyal etkenlerinin de kanser oluşum sürecinde rol aldığı kabul görmektedir. Meme kanseri gelişiminde önemli risk faktörü ise kadın cinsiyeti ve yaşın ilerlemesidir. Ülkenin batısı ile doğusu arasında önemli ölçüde kanser oranında farklılıklar vardır ve bunun temel nedeni ise Türkiye'nin batı kısımlarındaki yaşam tarzının batı toplumlarına benzerliği kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Chlebowski ve ark., 2003; Cuzick, 2003; Marchbanks ve ark., 2002; Million Women Study Collaborators, 2003; Özmen ve ark., 2009).

Meme kanseri, ortaya çıkan yeni bilgiler ve gelişmelerle birlikte hala çok geniş bir alandır. Meme kanserinin kesin nedeni bilinmemekle birlikte, dünya çapında yapılan araştırmalar, belirli özelliklere sahip kadınların meme kanseri riskinin yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Bu özelliklere kısaca "risk faktörleri" de denilmektedir (Somunoğlu, 2007).

Şu anda meme kanseri gelişiminde etkili olduğu gösterilen risk faktörleri şunlardır:

1. Yaşam tarzı (diyet, fiziksel aktivite, içme)
2. Üreme öyküsü (menarş yaşı, doğum sayısı, menarş) Geç gebelik, geç menopoz, geç emzirme/kısa emzirme dönemi, kısırlık, düşük, oral kontraseptiflerin uzun süreli kullanımı, menopozal hormon replasman tedavisi)
3. Çevresel faktörler (kimyasallar, radyasyon, elektromanyetik alanlar, viral enfeksiyonlar, sigara)
4. Genetik faktörler (aile öyküsü, bilinen veya şüphelenilen) BRCA1/2, p53, PTEN veya meme kanseri riski ile ilişkili diğer genetik değişiklikler)
5. Demografi (cinsiyet, yaş, ırk vb.) (Brody ve Rudel 2003; Koçak ve ark., 2011; Sasco, 2001; Singletary, 2003).

#### **2.4. Meme Kanseri Tedavi Yolları**

Meme Kanseri tedavisinde kullanılan yöntemler cerrahi yöntem, radyoterapi yöntemi, hormon tedavisi ve son olarak kemoterapi olarak sıralayabiliriz. Cerrahi yöntemler, mastektomi sonrası memenin şeklinin eski haline getirilmesini sağlar. Aksiller lenf bezlerine yayılıp yayılmadığını anlamak ve ilerlemiş kanser durumunda semptomları hafifletmek için kullanılabilir (Burbank, 1997). Radyasyon tedavisi, ameliyat sonrası tümör oluşumunu veya meme kanseri metastazını önlemek için kullanılan, kanser hücrelerini yüksek enerjili ışınlarla öldüren bir tedavidir (Akdeniz, 2010; Aydın ve Topuz, 2007; Utan ve ark., 2007;). Meme kanseri hücrelerinin yüzde sekseni ÖR pozitifdir ve ÖR pozitif meme kanserlerinin %65'i PR pozitifdir (Akdeniz, 2010). Hormon tedavisinin amacı, hormon reseptörleri de dahil olmak üzere kanser hormonlarının etkilerini bloke ederek kanser gelişimini önlemektir. Kemoterapi, kanser hücrelerini öldüren veya büyümelerini kontrol eden kemoterapötik ilaçları kullanan bir tedavidir. Kemoterapinin etkinliği, kullanılan ilaç, hastanın durumu, dozaj rejimi ve dozaj rejimi gibi birçok faktöre bağlıdır. Kemoterapi, bir tümörü tamamen yok etmek, hastayı tedavi etmek, tümörün yayılmasını veya gerilemesini önlemek ve tümörün neden olduğu semptomları ortadan kaldırmak için kullanılır. Kemoterapi tek başına veya diğer tedavilerle birlikte verilebilir. Diğer tedavileri daha faydalı hale getirmeye yardımcı olabilir (EMRO Technical Publication Series 31, 2006; University of Maryland Medical Center).

## 2.5. Paklitaksel

Taksan ailesinin ilk üyesi olan PTX, Ulusal Kanser Enstitüsü tarafından binlerce farklı bitkinin kanser üzerindeki etkileri araştırılırken keşfedilmiştir (Wani ve ark., 1971). PTX ürünü, TAXOL® (Bristol Myers Squibb Company, NY, NY) olarak adlandırılmıştır (Arbuck ve Blaylock 1995). PTX formülü  $C_{47}H_{51}NO_{14}$ 'tür ve molekül ağırlığı 853.9 daltondur. Beyaz kristal bir maddedir. Erime sıcaklığı 216-217 °C'dir. Lipof ilik bir yapıya sahiptir (Panchagnula, 1998). Sudaki çözünürlüğü 0.3 µg/ml kadar düşük olup, çeşitli organik solventlerdeki çözünürlüğü yüksektir (Adams, 1993).

PTX, meme ve rahim kanserini tedavi etmek için kullanılan önde gelen ilaçlardan biridir (Karlığa B, 2004) Taksan ilaçları hücre içi  $\beta$ -tubuline geri dönüşümlü olarak bağlanır ve mikrotübül kompleksini stabilize eder. Böylece hücre döngüsünü durdurarak hücrelerin apoptozise girmesini indükler (McGroganve ark., 2008). PTX'in apoptotik hücre ölümüne ve doza bağlı hücre ölümüne neden olduğu gösterilmiştir. Düşük doz PTX nedeniyle hücreler G2/M fazı sırasında birikir ve apoptozise neden olur (Torres ve Horwitz, 1998; Jordan ve ark., 1996). Klinik çalışmalar, PTX'in gastrointestinal toksisite, aşırı duyarlılık, nörotoksisite ve miyelosupresif etkiler gibi yan etkileri olduğunu göstermiştir (Frederiks ve ark., 2015). Bazı durumlarda, hücre içi PTX'e direnç gözlemlenmiştir (Němcová Fürstová ve ark., 2016). Ayrıca kemoterapi alan kanser hastalarında toksik polinöropati gelişimi başlıklı bir çalışmada PTX alan bir hastada tedavi sonrası polinöropati geliştiği gözlenmiştir (Türk ve ark., 2016).

## 2.6. Selenyum Dioksit

Se, insanlar ve hayvanlar için esansiyel bir eser elementtir. Periyodik tabloda 4. periyot ve 6. grupta yer alır ve kükürtle benzer özellikler gösterir (Wilber, 1980). SEL, Se'nin inorganik bir şeklidir. Se, havada ve suda, toprakta ve kayada katı halde çözünür. Bitkilere, mantarlara, bakterilere ve insanlara bu şekilde ulaşır (Büyükakyüz ve ark., 2000). Se, biyolojik sistemlerde yaygın olarak organik formda (selenometiyonin ve selenosistin), aynı zamanda inorganik formlarda (selenik asit, selenyum tuzu ve selenyumdioksit) bulunur (Evenson ve Sunde 1988; Mahan 1999; Surai 2000; Wolfram 1999) (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1.** Se'nin Oksidasyon Durumları ve Se Bileşiklerine Örnekler

| Oksidasyon Durumu | Örnekler                                                  |
|-------------------|-----------------------------------------------------------|
| + 6               | Selenyum trioksit, Selenat, Selenik asit                  |
| + 4               | Selenyum dioksit, Selenöz asit, Selenit                   |
| 0                 | Elemental Selenyum, Selenodiglutasyon, Selenyum sülfidler |
| - 2               | Hidrojen selenid, Dimetilselenid Sodyum selenid           |

Bir zamanlar toksik ve kanserojen olduğu bilinen Se, artık memelilerde kanser, kardiyovasküler hastalık, nörolojik problemler, yaşlanma ve tiroid fonksiyonu gibi önemli dejeneratif hastalıklara katkıda bulunan önemli bir eser element olarak tanımlanmaktadır (Schomburg ve ark., 2004). Se yakın zamanda kemoterapi ve radyasyon tedavisi ile ilişkili yan etkilere bir alternatif olarak önerilmiştir (Francescato, 2001; Fujieda, 2006; Letavayova, 2006; Tang, 2009). Se takviyesinin, antikanser özelliklerini ve kemoterapinin neden olduğu yan etkileri kontrol altına alabilmesi nedeniyle kemoterapi alan meme kanseri hastaları için faydalı olduğuna inanılmaktadır. Yapılan çalışmalar, kullanılan Se dozunun ve kullanılan Se'nin kimyasal yapısının Se bileşeninin kanser önleyici etkinliğini belirlemede önemli olduğunu göstermiştir (El Bayoumy ve Sinha, 2004). Yapılan bir çalışmada SEL'in MCF-7 (ÖR pozitif) ve MDA-MB-231 (ÖR negatif) meme kanseri hücre dizilerini inhibe etmede selenometiyoninden daha etkili olduğunu göstermiştir (Kuppusamy ve ark., 2005). Watrachetal ve arkadaşları çalışmalarında, Se uygulamasının in vitro olarak meme kanseri hücrelerinin büyüme hızını azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca Se verilmesinin, meme kanseri hücre proliferasyonunda %80 ila %93'lük bir azalmaya neden olduğunu ve konak üzerinde hiçbir önemli olumsuz etkisi olmadığını bildirmişlerdir (Watrach ve ark., 1984). Se'nin anti-kanser aktivitesinin olası mekanizmaları arasında, apoptozis indüksiyonu ve hücre proliferasyonunun inhibisyonuna ek olarak, anjiyogenez aktivitesinin baskılanması ve oksidatif stresin düzenlenmesi bulunmuştur (Dong ve ark., 2002; Gallegos ve ark., 1997; Jiang ve ark., 2000).

## 2.7. Apoptozis

Normal fizyolojik koşullar altında, hasar görmüş veya yaşlanmış hücreler, apoptozis adı verilen genetik olarak programlanmış bir hücre ölüm mekanizmasıyla intihar etmektedir (Kierszenbaum, 2006). Apoptozis fizyolojik bir süreçtir (Ross ve Pavlina, 2014). Apoptozis mekanizması bozulduğunda, yavaşladığında veya arttığında çeşitli hastalıklar ortaya çıkar. Kanser, otoimmün hastalık veya viral enfeksiyonların olması gerekenden daha az apoptozis ile meydana geldiği, iskemi/reperfüzyon hasarı veya nörodejeneratif hastalığın ise artmış apoptozis ile ortaya çıktığı gösterilmiştir (Hotchkiss ve ark., 2009). Apoptozis, hücre dışı ve hücre içi sinyal iletiminden kaynaklanan bir dizi olaydır. Son aşamada apoptozis, hücrelerin fagositozu ile tamamlanır (Thompson, 1999). Hücre apoptozisine neden olan mekanizmalar; DNA hasarı, düşük pH, yüksek hücre içi Ca seviyeleri, bozulmuş metabolizma ve/veya hücre döngüsü ve hipoksidir. Hücre dışı sinyaller arasında büyüme ve üreme faktörü eksikliği, ölüm reseptörü aktivasyonu (FAS-FAS ligand aracılı apoptozis, TNF aracılı apoptozis), sitotoksik T lenfositler ve dış faktörler (iskemi, Toksinler, UV'ler, kemoterapötik ajanlar, radyasyon) bulunur. Apoptozis mekanizmasında, başlatıcı kaspaz, bir apoptozis uyarısıyla başlayan efektör kaspaza bir ölüm sinyali iletir. Efektör kaspazlar ise ilgili proteinleri parçalayarak apoptotik hücre morfolojisine neden olur. Kaspaz aktivasyonundan sonra apoptozis iki şekilde gerçekleşir;

1. İnstrinsik (Mitokondriyal) yol

2. Ekstrinsik yol

a. Direkt mekanizma

b. Dolaylı mekanizma

Kaspazlar da bu iki sinyal yolunda yer alır. Hücre içi sinyaller, endojen apoptozis yolunu aktive etmektedir ve hücre dışı sinyaller, eksojen yol boyunca apoptozisi indüklemektedir (Danial ve Korsmeyer, 2004; Kroemer ve ark., 2007; Smaili ve ark., 2000).

Optik ve elektron mikroskobu kullanılarak apoptozis sırasında hücrelerde çeşitli morfolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Apoptozisin erken evrelerinde hücre içi sodyum (Na), potasyum (K) ve klor (Cl) taşıma sistemleri durarak hücre içi ve dışı

arasında hareketsizliğe ve hücrenin kasılmasına neden olur ve piknoz oluşur. Çevresindeki hücrelerle olan bağlantısını kaybeder. DNA, endonükleazlar tarafından spesifik olarak nükleozomdan ayrılır. 180-200 baz çiftinin parçaları, elektrof orez ile tel merdiven görüntüleri oluşturdukları için "DNA merdivenleri" olarak adlandırılır. Hücreler kasıldıkça hücre hacmi azalır, sitoplazma yoğunlaşır ve organeller sıkıştırılır. Piknoz, kromatin yoğunlaşmasının bir sonucudur ve apoptozisin ayırt edici özelliğidir. Kromatin yoğunlaşmasının erken aşamalarında, elektronca zengin nükleer malzeme nükleer zarfın altında çevresel olarak toplanır. Transglutaminaz enzimi, plazma zarında "zeiosis" adı verilen tomurcuklanmaya neden olur ve hücreler, sitoplazma ile çevrili kromatin parçalarından oluşan apoptotik gövdelere bölünür. Fosfotidil serin, apoptotik cisimlerin fagositozunu uyaran aminof osfolipid transferaz enzimi ile hücre zarının iç tabakasından zarın dışına göç eder ve daha sonra fagolizozomlardaki makrof ajlar, parankimal hücreler veya neoplastik hücreler tarafından fagosome edilir ve fagolizozomlar içinde parçalanırlar (Akşit ve Bildik, 2008; Elmore, 2007; Law ve Elmore, 2008; Tomatır, 2003).

## **2.8. Nükleer Faktör Kappa Beta**

Nükleer Faktör Kappa Beta (NF- $\kappa$ B), genellikle bir dimer formda apoptozisde yer alan çok önemli bir transkripsiyon faktörüdür ve ortak DNA dizilerine bağlanan yakından ilişkili proteinler içermektedir (Aggarwal, 2004). NF- $\kappa$ B ilk olarak 1986 yılında Sen ve Baltimore tarafından keşfedilmiştir. İlk olarak, immünoglobulin kappa hafif zincir genindeki ekspresyonu bağlayan ve düzenleyen B lenfositlerinin çekirdeğinde bulunan bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanmıştır (Sen ve Baltimore, 1986). NF- $\kappa$ B, hücre büyümesi, farklılaşması, apoptozis düzenlenmesi, sitokin üretimi ve neoplastik transformasyon ile ilgili birçok genin ekspresyonunu düzenlemektedir (Baldwin, 1996; Pahl, 1999).

NF- $\kappa$ B normalde hücre sitoplazmasında inaktiftir ve sadece aktive edildiğinde çekirdeğe geçer (Shishodia ve Aggarwal, 2004). NF- $\kappa$ B, inflamatuvar uyaranlar, sitokinler, karsinojenler, tümörjenik ajanlar, alfa ışınları, endotoksinler ve UV ışığı ile aktive edilebilir (Ghosh ve Hayden, 2008). Bir hücre çeşitli uyaranlara maruz kaldığında bir sinyal alır. Sinyal alıcıya bağlanır. Kappa kinaz enzim inhibitörü daha sonra kappa Ba inhibitörünü RelA/p50 kompleksinden ayırır. RelA/p50 kompleksi sitoplazmadan çekirdeğe göç eder. Burada koaktivatör ve RNA polimeraz ile birlikte

hedef gene bağlanır. NF-kB genini uyarır (Su ve Schneider, 1996; Tank ve ark., 2006). NF-kB, tümör gelişimi ile ilişkilidir ve inflamasyon, hücre ölümsüzlüğü, anti-apoptozis/hayatta kalma, anjiyogenez, proliferasyon, tümör gelişimi ve metastaz ile ilişkilidir (Aggarwal 2004; Gupta ve ark., 2010; Karin ve ark., 2006; Nishikori 2005).

Çok sayıda araştırmacı tarafından pankreas kanseri, meme kanseri, kolorektal kanserler, hepatosellüler kanser, prostat kanseri ve mide kanseri gibi çeşitli kanserlerde NF-kB aktivitesi gösterilmiştir (Biswas ve ark., 2001; Chen ve ark., 2002; Lind ve ark., 2001; Tai ve ark., 2000; Yamanaka ve ark., 2004; Wang ve ark., 1999;). -NF-kB aktivasyonunun, Bcl-2 ailesinin üyelerini ve kaspaz inhibitörlerini uyararak apoptozisi inhibe ettiği rapor edilmiştir (Lin ve Karin, 2007). Aynı zamanda tümör hücrelerinin NF-kB inhibisyonu ile kemoterapiye duyarlı bir hale gelebildiği yapılan çalışmalar sonucu saptanmıştır (Rundall ve ark., 2004). NF-kB'nin sürekli olarak inaktif durumda kalması ise apoptozis ve gecikmeli hücre büyümesine neden olduğu bilinmektedir (Baldwin, 1996). Bununla birlikte NF-kB'nin tümörlerde baskılanması durumunda hücre siklusunu durdurup, apoptozise sebep olduğu belirlenmiştir (Bharti ve Aggarwal, 2002). NF-kB'nin antiapoptotik rol üstlenerek tümörleşme sürecindeki etkilerinin gösterildiği bu çalışmaların yanında, artmış apoptozisle korelasyon gösterir şekilde artmış NF-kB aktivitesi sergileyen çeşitli örnekler de gösterilmiştir (Parrondo ve ark., 2010; Ryan ve ark., 2000; Stark ve ark., 2007). Bu çalışmalar, kanser terapilerinde NF-kB'nin hedef molekülü olduğunu göstermektedir. NF-kB'nin, özellikle hedef genlerinin uyarılması aracılığıyla hücre hayatta kalımını teşvik etmek suretiyle çok çeşitli patolojik, fizyolojik, biyolojik proseslerde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Tanabe ve ark., 2010).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, TYL-2021-11044 no'lu proje kodu ile Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Çalışmanın deneysel aşamaları Betül Ziya Eren Genom ve Kök Hücre Merkezi ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. Hücre Kültürü

Çalışmamızda MDA-MB-231 (ATCC kaynaklı) insan meme kanseri hücre dizisi kullanıldı. Hücreler %10 oranında fetal sığır serumu (FBS), %1 L-glutamin içeren DMEM besiyerinde kültüre edildi. Ayrıca bakteri kontaminasyonunun önlenmesi amacıyla 100 IU/ml penisilin ve 100 µg/ml streptomisinden oluşan antibiyotik solüsyonundan %1 oranında besiyerine eklendi. Deney sırasında, tüm hücre kültürü prosedürleri, UV ışığı ile sterilize edilmiş ve çalışmadan önce %70 etanol ile temizlenmiş bir laminar akım ünitesinde gerçekleştirildi. Daha önce dondurulup sıvı nitrojen tanklarında saklanan hücre hattı 37°C'lik su banyosunda hızla eritildi. 5 ml hücre ortamı içeren 15 ml'lik steril polipropilen konik tabanlı steril tüpe aktarıldı. Steril tüp 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant şeklinde bulunan dimetil sülfoksit (DMSO) hücrelerden hızla uzaklaştırıldı. Hücre peletine 1 ml taze ortam eklendi. Hücreler 75 cm<sup>2</sup> kültür flasklarına ekildi. 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde bekletilerek canlılıklarının devamı sağlandı.

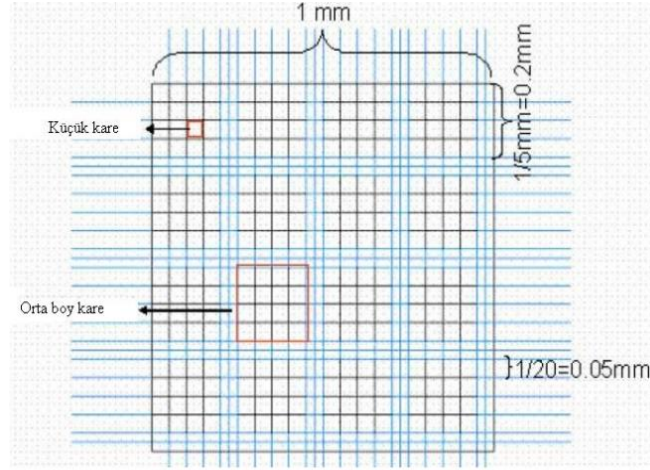
#### 3.2. Hücrelerin Pasajlanması

Kültür flaskında hücre yoğunluğu %80 oranına ulaşana kadar beklendi. Bu yoğunluğa gelen flasklardaki hücrelerin çoğaltılması amacıyla pasajlama işlemi uygulandı. Öncelikle serolojik pipet yardımıyla besiyeri hücrelerden uzaklaştırıldı. Kültür yüzeyi tripsin muamelesinin etkisini arttırmak için Ca ve Mg içermeyen steril Fosfat tamponlu Salin (PBS) ile bir kez yıkandı. PBS uzaklaştırıldıktan sonra hücreleri yapıştıkları flaskın yüzeyinden kaldırmak amacıyla 4 ml tripsin solüsyonu

ilave edildi. Flasklar 37°C’de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 1-2 dakika hücreler yüzeyden kalkana kadar bekletildi. Bu süre sonunda hücrelerin tamamen flask yüzeyinden kalktığından emin olmak amacıyla invert mikroskop altında kontrol edildi. Hücreler flask yüzeyinden ayrıldığında tripsinin inhibisyonu amacıyla konulan tripsin hacminin en az iki katı kadar besiyeri flaska ilave edildi. Flask içindeki ortam, tripsin ve hücre içeren süspansiyon aspire edilerek steril tüpe aktarıldı. 1500 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen supernatant atıldı. Falkon tüpünün dibinde gözlenen hücre peleti üzerine 2 ml kültür ortamı ilave edildi ve pipet ucuyla hücreler süspanse edildi. Daha sonra hücre sayımı yapıldı. Yedeklenecek hücreler, %10 DMSO içeren dondurma besiyerinde -80°C de stoklandı. Çalışmaya devam edilen hücre kültürleri 37°C ve %5 CO<sub>2</sub> ortamda etüvde yeterli doluluk oranına ulaşınca kadar kültür edildi.

### **3.3. Hücrelerin Sayılması**

Hücre sayımı trypan mavi boyaması yöntemiyle yapıldı. 1:1 oranında tripan mavisi ile hücre süspansiyonu steril eppendorf içinde birleştirildi (20µl:20µl). Thoma laminin her iki tarafındaki lam ve lamelin birleştiği ortadaki kapiller boşluklara 10’ar µl tripan mavisi ile boyanmış hücre süspansiyonu verildi. 16 büyük kareyi barındıran thoma laminin yüzeyinde tüm hücreler sayıldı (10x büyütmede). Sayılma esnasında üst ve sol dahil sağ ve alt çizgi hariç olarak sayıldı (Şekil 3.1). Thoma laminin her iki tarafındaki karelerde sayılan hücrelerin sayısının ortalaması alındı. Sayılan ortalama hücre sayısı x Dilüsyon faktörü x 10<sup>4</sup> formülü ile 1m’deki hücre sayısı bulundu (Russel JP ve ark., 2003).



**Şekil 3.1.** Thoma lamının sayım yapılan kareleri (Kaya ve ark., 2014)

### 3.3.1. Selenyum Dioksitin Hazırlanması

SEL (Selenium dioxide; molecular weight: 110,96 g/mol), Merck-Millipore firmasından (800653, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) temin edildi. Öncelikle 500µM stok SEL çözeltisi için 1,1 mg SEL tartıldı ve 20 ml steril dH<sub>2</sub>O ile çözdürüldü. Daha sonra 0,2 µm filtreden geçirilerek steril hale getirildi.

### 3.3.2. Paklitaksel Dozunun Belirlenmesi

Sıvı formda temin edilen PTX (300 mg/50 ml, Sandoz, Novartis) hangi dozda uygulanacağı literatür taraması sonrası 20 nM olarak belirlendi (Sprouse ve Herbert, 2014; Tinghua ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2019).

### 3.4. Selenyum Dioksitin IC<sub>50</sub> Dozunun Belirlenmesi

Bu çalışmada SEL'in IC<sub>50</sub> dozunu belirlemek amacıyla MTT testi (tetrazolyum (3-(4,5-dimetiltiyazol-2)-2,5-difeniltetrazolyum bromid) kullanıldı (Yerlikaya ark., 2017). MTT testinde, kolorimetrik yöntem kullanılarak hücre çözeltisindeki canlı hücre sayısı kantitatif olarak hesaplanır. Bu teknik, bozulmamış mitokondriyal aktivitenin bir sonucu olarak tetrazolyum halkasının indirgenmesiyle formazan kristal oluşumu ilkesine dayanmaktadır (Berridge ve Tan, 1993). Uygulanan maddeye maruz kalan hücrelerin canlılığı, hiçbir madde içermeyen kontrol hücreleri olarak kullanılan hücrelerin %100 canlılığı varsayılarak belirlenir. Yani kontrol hücresi %100 canlı olarak kabul edilir ve diğer hücrelerin canlılığı, kontrol ile ilişkilendirilerek hesaplanır (Yerlikaya ark., 2017).

$$\text{Canlılık (\%)} = 100 \times \frac{\text{Örneğin Absorbansı} - \text{Blankin Absorbansı}}{\text{Kontrolün Absorbansı} - \text{Blankin Absorbansı}}$$

Kontrolün Absorbansı – Blankin Absorbansı

Bu amaçla MDA-MB-231 hücreleri adherent hücreler olduklarından dolayı tripsinizasyonla kültür flaskından kaldırıldı. Hücre süspansiyonu tripan mavisi sayım yöntemi ile thoma lamında sayılarak 3 adet (24, 48 ve 72 saat) 96 kuyucuklu plakanın her kuyucuğuna 100µl'de  $5 \times 10^3$ 'er hücre gelecek şekilde ekildi. Sonra hücrelerin yapışması için 37°C'de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatörde 24 saat ön inkübasyona bırakıldı. Geniş aralıklar sonrası doz aralıkları daraltılarak belirlenen SEL dozları (14µM, 12 µM, 10 µM, 8 µM ve 6 µM) ilgili kuyucuğa konuldu. Her grup için 3 kuyucuk olacak şekilde gruplar hazırlandı. Hücreler daha sonra 24, 48 ve 72 saat boyunca 37°C'de %5CO<sub>2</sub> inkübatörüne yerleştirildi. Her periyodun sonunda uygun plaka üzerindeki hücelere 10 µl MTT solüsyonu eklendi. Hücreler daha sonra 37°C'de %5 CO<sub>2</sub>'de 4 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında oluşan formazan kristallerini parçalamak için tüm kuyucukların hücrelerine 100 µl DMSO ilave edildi. Kör kontrolde, aynı DMSO'dan 100 µl üç boş kuyucuğa ilave edildi. Hücreler inkübatörde 10 dakika tutuldu. Süre sonunda plaka üzerindeki çözeltinin formazan kristalleri eriyip mor renge döndü ve 570 nm dalga boyunda spektrof otometre ile absorbans değeri ölçüldü. Kontrole göre ilaç uygulanan hücrelerin absorbans değerleri orantılanarak IC50 dozu belirlendi.

### 3.5. Deney Gruplarının Oluşturulması

MDA-MB-231 hücre hattı için SEL IC50 dozu belirlendikten sonra PTX ile birlikte sekiz grup oluşturuldu;

- Kontrol grubu: Herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan sadece besiyeri ile inkübe edilen hücre hattı grubudur.
- SEL1 grubu: SEL'in IC50 dozunun iki katının hücelere uygulandığı grup.
- SEL2 grubu: SEL'in IC50 dozunun hücelere uygulandığı grup.
- SEL3 grubu: SEL'in IC50 dozunun yarısının hücelere uygulandığı grup.
- PTX grubu: PTX'in belirlenen dozunun hücelere uygulandığı grup.
- SEL1+PTX: SEL'in IC50 dozunun iki katının ve PTX dozunun birlikte

hücrelere uygulandığı grup.

- SEL2+PTX: SEL'in IC50 dozunun ve PTX dozunun birlikte hücrelere uygulandığı grup.
- SEL3+PTX: SEL'in IC50 dozunun yarısı ve PTX dozunun birlikte hücrelere uygulandığı grup.

### **3.6. Apoptosis Analizi İçin TUNEL Metodu**

Apoptosis analizi ApopTag® Fluorescein In Situ Apoptosis Detection Kit (EMD Millipore, Darmstadt, Almanya) kullanılarak üretici firmanın talimatlarına göre yapıldı. Hücreler iki kez PBS ile yıkandıktan sonra 5 dakika boyunca equilibration buffer ile işlendi. TUNEL karışımı hücreler üzerine uygulandıktan sonra nemli ve karanlık ortamda 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Süre sonunda hücrelere stop/yıkama tamponu eklendi ve 37°C'de 10 dakika bekletildi. Hücreler iki kez PBS ile yıkandıktan sonra anti-digoksinin konjugat solüsyonu uygulandı ve 30 dakika oda sıcaklığında bırakıldı. PBS ile yıkanan hücreler çekirdeklerin boyaması için 1 dakika boyunca DAPI ile işleme tabi tutuldu. Hücreler tekrar PBS ile yıkanıp su bazlı bir kapatıcı ile lam üzerine kapatıldı. Hücrelerin boyanma durumu Olympus BX51 floresan mikroskobu altında incelendi.

### **3.7. NF-kB Ekspresyon Analizi**

MDA-MB-231 hücre hattında ilaç uygulamaları sonrası NF-kB ekspresyon düzeyini belirlemek üzere immüno floresan boyama metodu kullanıldı. Hücreler PBS ile yıkandıktan sonra %5 goat serumu damlatılarak 1 saat bekletildi. Tekrar PBS ile yıkandı. Daha sonra hücreler NF-kB antikoru(Santa cruz, Sc-8008, Kaliforniya, ABD) damlatılarak 1 gece +4°C'de bekletildi. Ertesi gün hücreler 10 dk PBS ile yıkandıktan sonra FITC sekonder antikor ile 60 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Daha sonra PBS ile yıkanan hücrelere çekirdek boyanması için bir dakika DAPI uygulandı. Hücreler tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kapatıcı medyum ile kapatıldı. Preparatlar Olympus BX51 floresan mikroskobu altında incelendi. NF-kB ekspresyon düzeyini belirlemek üzere her gruptan rastgele 10 farklı alandan Image J yazılımı (ImageJ, Bethesda, Amerika) kullanılarak ölçüm yapıldı.

### **3.8. Selenyum Dioksit ile Paklitaksel Kombine Uygulanmasında Hücre Canlılığının Gösterilmesi**

SEL ile PTX kombine uygulanmasının hücre canlılığına etkisi MTT metodu uygulanarak gösterildi (Yerlikaya ark., 2017). Bunun için besiyeri içerisinde  $3 \times 10^3$  hücre/kuyu olacak şekilde 96 kuyucuklu plakaya hücre ekimi yapıldı. Ertesi gün belirlenen dozlarda SEL ve PTX solüsyonları besiyeri ile dilüe edilerek hazırlandı. Her bir dozdan üç farklı kuyuya uygulama yapıldı. Kontrol grubuna herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadı. Ardından hücreler  $37^{\circ}\text{C}$ , %5  $\text{CO}_2$ 'li inkübatöre konuldu. Belirlenen sürenin sonunda ilgili plakadaki hücreler üzerine 10µl MTT solüsyonu eklendi. Daha sonra hücreler 4 saat süreyle  $37^{\circ}\text{C}$ , %5  $\text{CO}_2$ 'li ortamda inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda bütün kuyucuklardaki hücrelerin besiyeri atıldıktan sonra hücrelerin üzerine 100 µl DMSO eklendi. Hücreler 10 dk inkübatörde bekletildi. Süre sonunda plakalardaki çözeltilerin absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda spektrof otometrede ölçüldü. Kontrol grubunun absorbans değerinde hücre sayısı %100 olarak kabul edildi. Kontrole göre ilaç uygulanan hücrelerin absorbans değerleri orantılanarak yüzde canlılık değerleri hesaplandı.

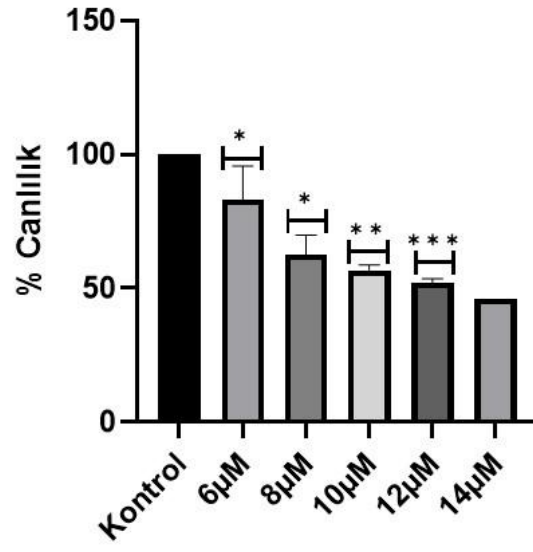
### **3.9. İstatistiksel Analiz**

TUNEL ve NF-kB immünreaktivite yoğunluğunun değerlendirilmesi için her bir gruptan rastgele 10 farklı alandan görüntü alındı. Image J yazılım programı kullanılarak immünreaktivite yoğunlukları ölçüldü. GraphPad Prism 8.0.2 paket programı verilerin istatistiksel analizi için kullanıldı. Shapiro-wilk testi ile verilerin normal dağılıma uygunluğu incelendi. Doz gruplarına göre yüzde canlılık değerleri “one sample t test” ile karşılaştırıldı. İkiiden fazla gruplar arası karşılaştırmalarda tek yönlü varyans analizi ve Kruskal Wallis testleri kullanıldı. İkiiden fazla ölçümler arası karşılaştırmalar için Friedman testi ve tekrarlı ölçümler de varyans analizi ile değerlendirildi. Çoklu karşılaştırmalar için Dunn-Bonferroni ve Tukey testleri uygulandı. Anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi.

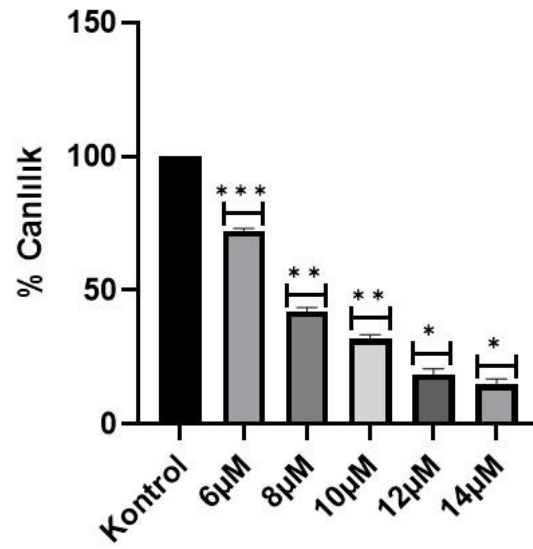
## **4. BULGULAR**

### **4.1. Selenyum Dioksitin IC50 Dozunun Belirlenmesi**

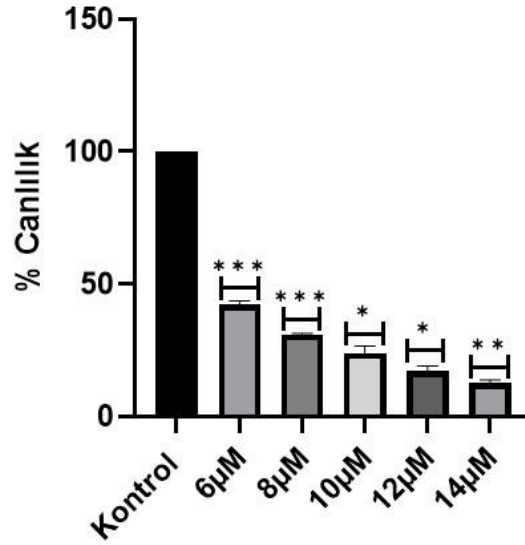
Hücrelerin SEL uygulaması sonrası canlılık durumu MTT analiziyle değerlendirildi. Bu amaçla deney için yeterli hücre miktarı elde edilene kadar hücreler kültür ortamında çoğaltıldı. tripsin ile flasktan kaldırılan hücreler sayıldıktan sonra 96 kuyucuklu plakalara 3000 hücre/kuyu olacak şekilde ekildi. İlk MTT denemesinde 150 mM, 100 mM, 50 mM, 10 mM, 5 mM, 2 mM, 0,5mM, 0,4 mM, 0,3 mM, 0,2 mM, 0,1 mM dozları seçildi. Ayrıca doz uygulamasının zamana bağlı değişimini gözlemleyebilmek için de 24, 48 ve 72 saatler için analiz yapıldı. İlk deneme sonrası hücre canlılığında IC50 değerinin tam belirlenemediği için doz aralığı değiştirilerek test tekrarlandı. Bunun için 14µM, 12 µM, 10 µM, 8 µM ve 6 µM dozları hücrelere 24, 48 ve 72 saat uygulandı. MTT analizi sonrası elde edilen bulgular şekil 4.1, 4.2., 4.3,'de görülmektedir. Elde edilen grafiklere bakıldığında doza bağlı hücre canlılığında zamanla azalma olduğu görüldü. Buna göre de IC50 dozu MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı için 12µM – 24 saat olarak belirlendi.



Şekil 4.1. MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 24 saat SEL toksisitesi



Şekil 4.2. MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 48 saat SEL toksisitesi



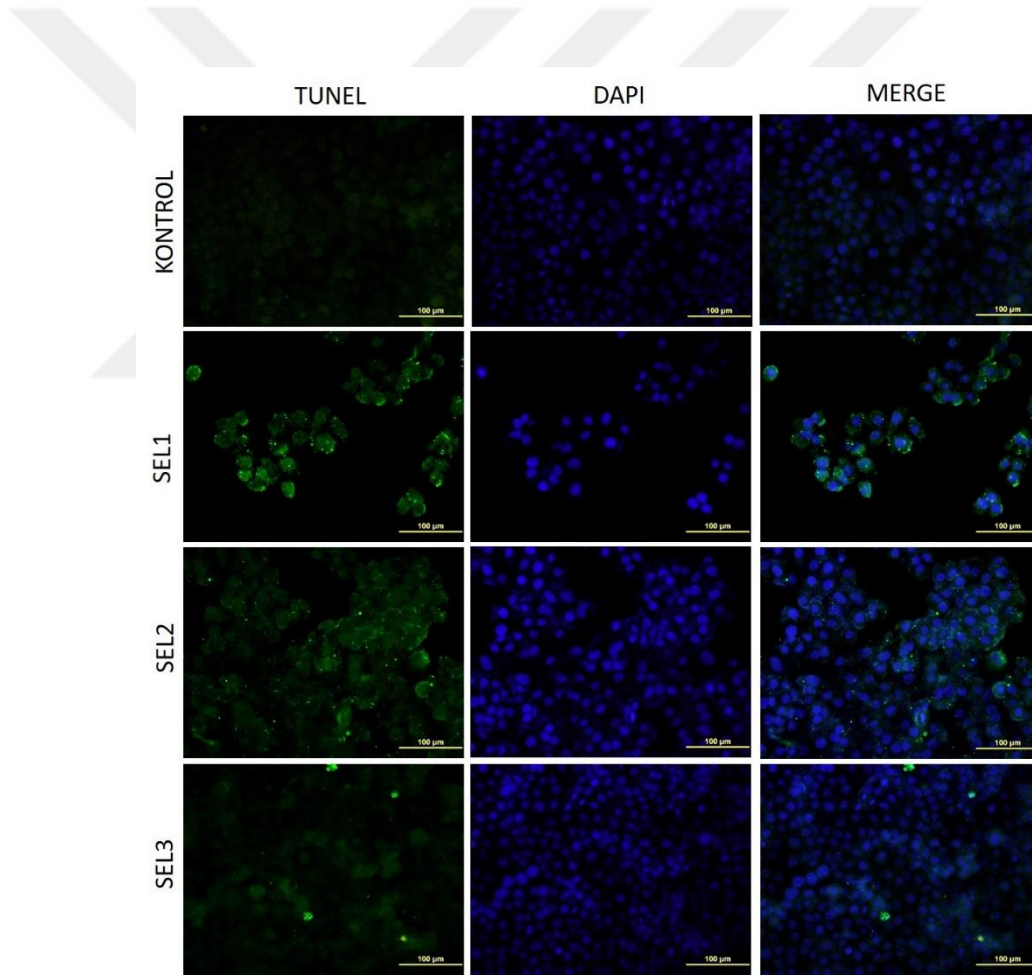
Şekil 4.3. MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 72 saat SEL toksisitesi

#### 4.2. Apoptozis Analizi Bulguları

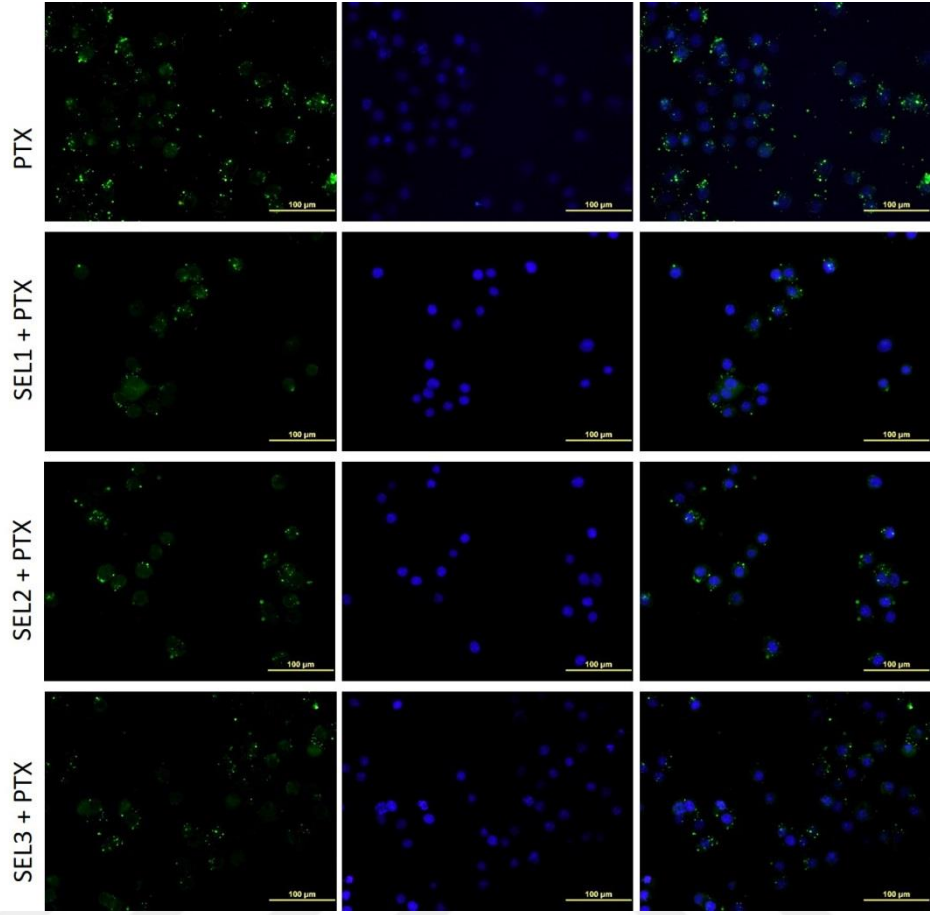
MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerine SEL ve PTX uygulaması sonrası elde edilen immunofloresan görüntüler şekil 4.4’de gösterildi. Resimlerdeki yeşil yansımalar TUNEL+ apoptotik cisimciklerdi. SEL1, SEL2 ve SEL3 gruplarına bakıldığında kontrol grubuna göre 24. saatte apoptotik hücrelerin artışı gözlemlendi. Bu apoptotik hücre artışının doza bağlı olduğu görüldü. PTX grubunda ise kontrol grubuna göre apoptotik cisimciklerin arttığı belirlendi. SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX gruplarında ise kontrol grubuna göre TUNEL+ apoptotik hücrelerde artış olduğu görüldü (Şekil 4.4).

Gruplarda TUNEL+ apoptotik hücre immünreaktivitesinin istatistiksel analiz sonuçları tablo 4.3’de görülmektedir. SEL’in tek başına meme kanseri hücrelerine uygulanması sonrasında SEL1 ve SEL2 grubunda TUNEL+ apoptotik hücre immünreaktivitesinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artma olduğu görüldü ( $p<0,001$ ). SEL3 grubunda ise kontrol grubuna göre apoptotik hücrelerde bir artış olduğu ancak bu artışın anlamlı farklı olmadığı belirlendi ( $p=0,3121$ ). PTX grubunda ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artmış apoptotik hücre varlığı dikkati çekti ( $p<0,0001$ ). SEL ve PTX’in birlikte uygulandığı gruplara

bakıldığında SEL1+PTX grubunda apoptotik hücre yoğunluğunda hem SEL1 hem de PTX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ). SEL2+PTX grubunda da benzer şekilde SEL2 ve PTX gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ( $p = 0,0004$ ,  $p = 0,0108$ ). SEL3+PTX grubu değerlendirildiğinde SEL3 grubu arasında anlamlı fark olmadığı ( $p > 0,9999$ ), PTX grubuna göre ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlendi ( $p = 0,0072$ ). SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX grupları ile PTX grubu arasında apoptotik hücre yoğunluğunda istatistiksel olarak bir azalma olduğu dikkati çekerken ( $p = 0,0091$ ,  $p = 0,0108$ ,  $p = 0,0102$ ), bu üç grubun kendi aralarında anlamlı bir farklılığın olmadığı görüldü ( $p = > 0,9999$ ) (Tablo 4.1).



**Şekil 4.4.** SEL ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına TUNEL görüntüleri. Hücrelerde oluşan apoptotik cisimcikler floresan mikroskopta yeşil yansımalar şeklinde görülmektedir. (Bar: 100 µM)



**Şekil 4.4 (devamı).** SEL ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına TUNEL görüntüleri. Hücrelerde oluşan apoptotik cisimcikler floresan mikroskopta yeşil yansımalar şeklinde görülmektedir. (Bar: 100 µM)

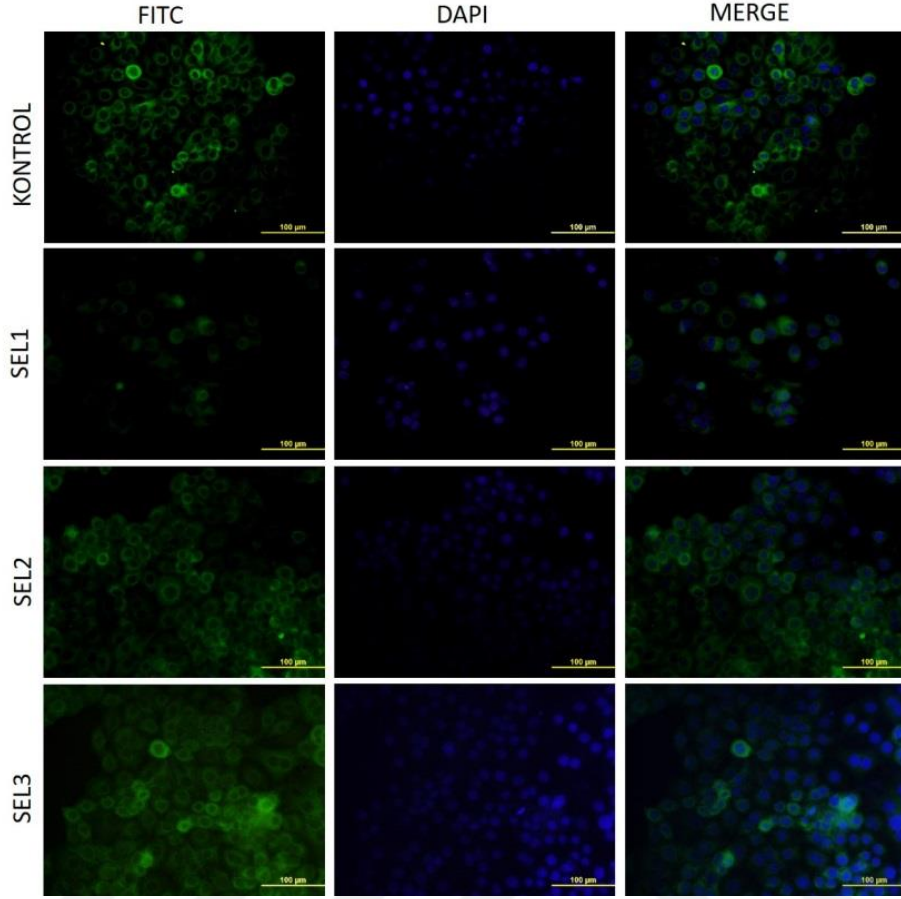
**Tablo 4.1.** SEL ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına ait TUNEL istatistiksel analiz sonuçları

|       | GRUPLAR                 |                          |                           |                          |                          |                          |                          |                          |        |
|-------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------|
|       | KONTROL                 | SEL1                     | SEL2                      | SEL3                     | PTX                      | SEL1+PTX                 | SEL2+PTX                 | SEL3+PTX                 | p      |
| TUNEL | (0.90±.27) <sup>a</sup> | (4.10±0.89) <sup>b</sup> | (3.26±0.80) <sup>bc</sup> | (1.72±0.21) <sup>a</sup> | (2.94±0.48) <sup>c</sup> | (1.74±0.40) <sup>a</sup> | (1.76±0.39) <sup>a</sup> | (1.75±0.38) <sup>a</sup> | <0.001 |

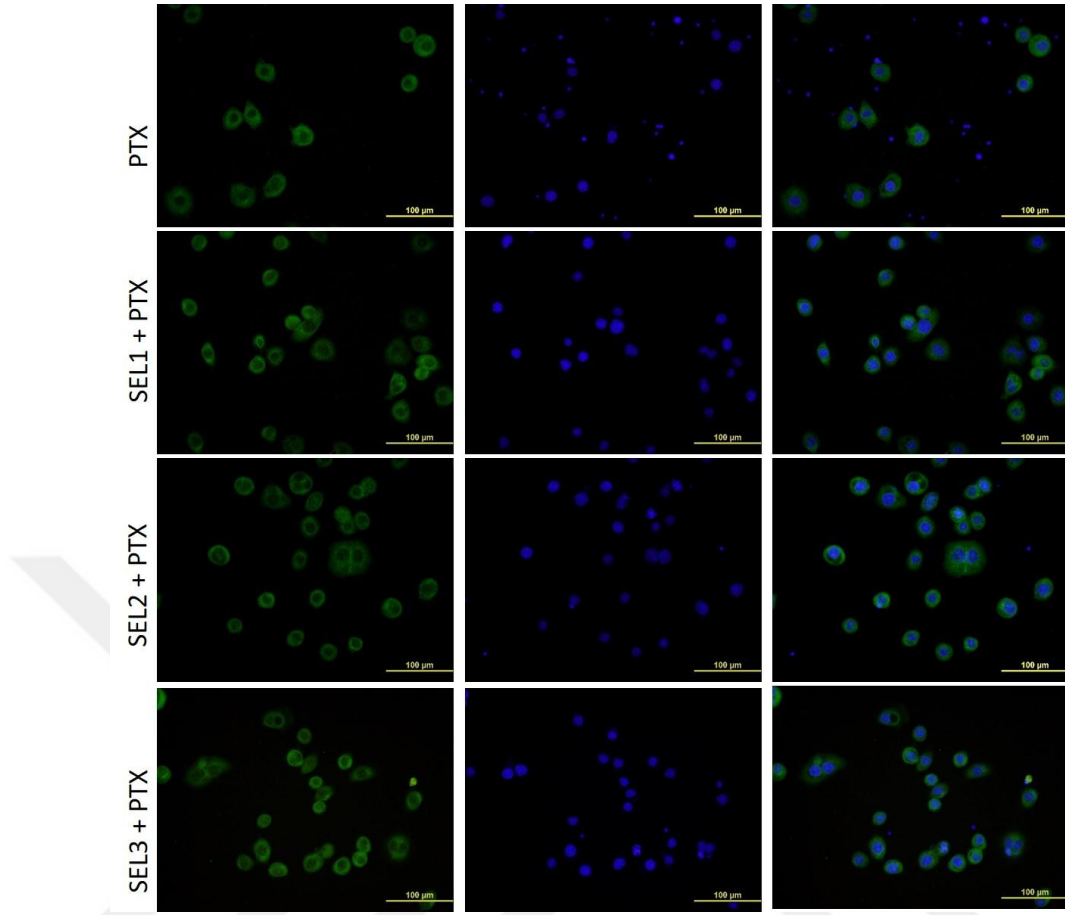
Veriler ortalama ±standart sapma olarak ifade edilmistir. p\*: gruplar arasındaki farkın anlamlılığını, p: zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir (Kontrol: Uygulama yok, SEL1: 24 µM, SEL2: 12 µM, SEL3: 6 µM, PTX: 20 nM, SEL1+PTX: 24 µM+20 nM, SEL2: 12 µM+20 nM, SEL3: 6 µM+20 nM).

### 4.3. NF-kB Bulguları

SEL ve PTX'in birlikte MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerine uygulaması sonrası NF-kB ekspresyonuna dair elde edilen immunofloresan görüntüler şekil 4.5'de gösterildi. En yüksek ekspresyonun kontrol grubunda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.5). Gruplardaki NF-kB immünreaktivite yoğunluğunun istatistiksel sonuçları tablo 4.2'de görülmektedir. SEL'in tek başına uygulanması sonrasında SEL1 ve SEL2 grubunda NF-kB ekspresyonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ). SEL3 grubunda ise kontrol grubuna göre bir azalma vardı. Ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,9999$ ). PTX grubunda ise kontrol grubuna göre NF-kB ekspresyonunun istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı dikkati çekti ( $p < 0,001$ ). SEL ve PTX'in birlikte uygulandığı gruplara bakıldığında SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX gruplarında PTX grubuna göre arttığı belirlendi. Ancak bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,9999$ ) (Tablo 4.2).



**Şekil 4.5.** SEL ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına NF-kB ekspresyonu. Parlak yeşil yansımalar NF-kB ekspresyonunu göstermektedir. (Bar: 100 µM)



**Şekil 4.5 (devamı).** SEL ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına NF-kB ekspresyonu. Parlak yeşil yansımalar NF-kB ekspresyonunu göstermektedir. (Bar: 100 µM)

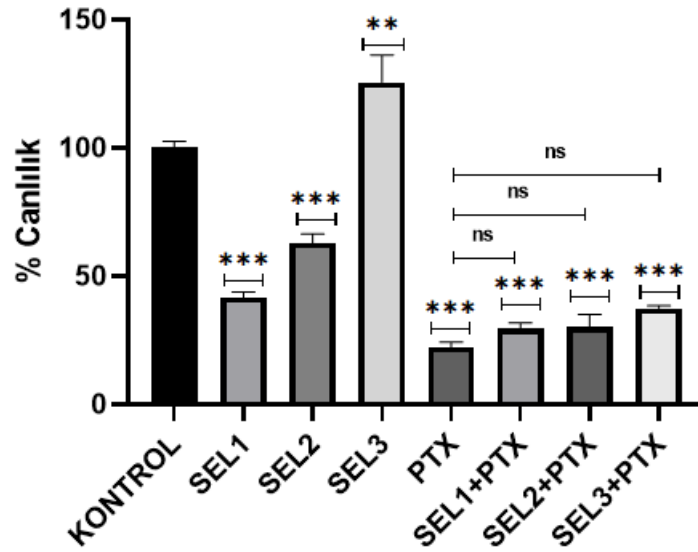
**Tablo 4.2.** SEL ve PTX uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına ait NF-kB ekspresyonu istatistiksel analiz sonuçları.

|       | Gruplar                  |                          |                           |                           |                          |                           |                           |                           |        |
|-------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|--------|
|       | Kontrol                  | SEL1                     | SEL2                      | SEL3                      | PTX                      | SEL1+PTX                  | SEL2+PTX                  | SEL3+PTX                  | p      |
| NF-kB | (8.89±2.92) <sup>a</sup> | (1.79±0.48) <sup>b</sup> | (4.62±0.77) <sup>bc</sup> | (7.62±1.14) <sup>ac</sup> | (3.31±1.85) <sup>b</sup> | (4.65±1.11) <sup>bc</sup> | (4.55±1.12) <sup>bc</sup> | (4.53±0.74) <sup>bc</sup> | <0.001 |

Veriler ortalama ±standart sapma olarak ifade edilmiştir. p\*: gruplar arasındaki farkın anlamlılığını, p: zamanlar arasındaki farkın anlamlılığını ifade etmektedir. Aynı satırda yer alan aynı küçük harfler gruplar arası benzerliği, farklı harfler farklılığı ifade etmektedir (Kontrol: Uygulama yok, SEL1: 24 µM, SEL2: 12 µM, SEL3: 6 µM, PTX: 20 nM, SEL1+PTX: 24 µM+20 nM, SEL2: 12 µM+20 nM, SEL3: 6 µM+20 nM).

#### 4.4. Selenyum Dioksit ile Paklitaksel'in Kombine Uygulamasında Hücre Canlılığı Bulguları

SEL ve PTX'in kombine uygulaması sonrasında hücre canlılığı MTT analiziyle değerlendirildi (Şekil 4.6). SEL1 ve SEL2 grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu görüldü ( $p<0,0001$ ). SEL3 grubunda ise kontrol grubuna göre hücre canlılığında anlamlı bir artış olduğu belirlendi ( $p=0,0027$ ). PTX grubunda hücre canlılığının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalış oldu dikkati çekti ( $p<0,0001$ ). SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın olduğu belirlendi ( $p<0,0001$ ). SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX gruplarında PTX grubuna göre hücre canlılığında bir artış olduğu belirlendi. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,9999$ ).



**Şekil 4.6.** SEL ve PTX'in kombine uygulaması sonrasında MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına ait hücre canlılığı.

## 5. TARTIşMA

Kanser, lkemizde ve dünyada ikinci ölüm sebebi olması nedeniyle insanları etkileyen mühim bir sağlık sorunu olduğunu göstermektedir (Cooper, 2000). Meme kanseri ise, memenin karakteristik hücrelerinde malign özelliğe sahip bir grup hücrenin kontrolsüz ve kararsız büyümesinin neden olduğu bir hastalıktır (Somunoğlu, 2009). Dünyada her yıl 2,1 milyon kadının sağlığını ve ölümünü olumsuz yönde etkileyen en yaygın malignite türüdür (Ellis ve ark., 2003). Hastalığın fazla görülmesi ve ölümle neticelenmesi sebebiyle bu hastalığın tedavisine yönelik incelemeler halen güncelliğini korumakta ve giderek çoğalmaktadır (Saurel ve ark., 2010). Günümüzde meme kanseri için rutin tedaviler olarak bilinen kemoterapi ve hormon tedavilerinin yanı sıra hedefe yönelik tedaviler de kullanılmaktadır ancak her zaman iyi sonuç vermemektedir (Türk, 2013). Bu nedenle süreci moleküler düzeyde anlamak ve normal hücreleri yok etmemek için yeni tedaviler aramak ve antioksidanların hücre içinde nasıl çalıştığını incelemek oldukça önemlidir. Son zamanlarda yapılan çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalarda, doğal bileşiklerin antikanser ilaçlarıyla birlikte uygulanmasının kanser hücrelerinin duyarlılığını arttırdığı bildirilmiştir (Nabekura, 2010). Bu tez çalışmasında PTX ve SEL'in tek başına ve birlikte uygulamalarının MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerindeki proliferasyon ve apoptozis yolağı üzerine etkileri immnof loresan yöntemlerle incelenmiştir.

Taksan ailesinin ilk yesi olan PTX, meme ve rahim kanseri tedavisinde kullanılan en önemli ilaçlardan biridir (Karlığa ve Talınlı, 2004). Klinik alışmalar, PTX'in gastrointestinal toksisite, aşırı duyarlılık, nörotoksisite ve miyelosupresif etkiler gibi yan etkileri olduğunu göstermiştir (Frederiks ve ark., 2015). Bazı durumlarda hücrelerde PTX'e karşı direnç olduğu gözlenmiştir (Nmcov-Frstov ve ark., 2016). Bu direnci ve yan etkileri azaltmak ile PTX'in etkinliğini arttırmak için, son

çalışmalarda kemoterapötik ajanların çeşitli doğal ürünlerle birlikte kullanımına odaklanılmıştır (Chavoshi ve ark., 2017; Chen ve ark., 2016; Jiang ve ark., 2017).

İnsan ve hayvan beslenmesi için gerekli bir mineral olan SE'un inorganik formu SEL'dir (Wilber, 1980). Se'un organik formu ise selenometiyonin'dir (Mahan, 1999). Se uygulamasının in vitro olarak meme kanseri hücrelerinin büyüme hızını azalttığı gösterilmiştir (Watrach ve ark., 1984). Yapılan başka bir çalışmada ise SEL'in MDA-MB-231 meme kanseri hücre dizilerini inhibe etmede selenometiyoninden daha etkili olduğu gösterilmiştir (Kuppusamy ve ark., 2005). SEL'in kanser önleyici etkisinin moleküler özellikleri belirlenmiş olsa da SEL'in PTX ile kombine kullanımının meme kanseri hücrelerindeki etkileri henüz net olarak tanımlanmamıştır.

Apoptozis, çok sayıda molekülün görev aldığı karmaşık bir süreçtir. Bunlardan biri transkripsiyon faktörü NF-kB'dir (Aggarwal, 2004). NF-kB yolu, inflamasyon, proliferasyon, apoptozis, metastaz, tümör hücresi infiltrasyonu ve anjiyogenez ile ilgili genlerin transaktivasyonu yoluyla tümör oluşumunda önemli bir rol oynar (Orlowski ve Baldwin, 2002). NF-kB aktivasyonu ile apoptozis inhibe ettiği daha önce gösterilmiştir (Lin ve Karin, 2007). Aynı zamanda, NF-kB inhibisyonu ile tümör hücrelerinin kemoterapiye duyarlı hale gelebileceği de belirtilmiştir (Rundall ve ark., 2004). NF-kB aktivitesi, hepatoselüler karsinom ile mide, , pankreas , kolon , prostat, ve meme kanseri dahil olmak üzere farklı kanser türlerinde birçok araştırmacı tarafından değerlendirilmiştir (Biswas ve ark., 2001; Chen ve Sawyers, 2002; Lind ve ark., 2001; Sasaki ve ark., 2001; Tai ve ark., 2000; Yamanaka ve ark., 2004, Wang ve ark., 1999). NF-kB'nin hücre döngüsü, infiltrasyon, metastaz, anjiyogenez ve anti-apoptozis ile ilişkili gen ekspresyonunu aktive etmesi nedeniyle tümör gelişiminde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Arlt ve ark., 2002). Ayrıca NF-kB transkripsiyon faktörünün inhibisyonunun, fibrosarkom, lenfoma, melanom, mesane, meme ve skuamöz hücreli karsinom hücre dizilerini TNF (tümör nekroz faktörü), kemoterapi ve radyasyon tedavisinin sitotoksik etkilerine karşı duyarlı hale getirdiği de bildirilmiştir (Batra ve ark., 1999; Jeremias ve ark., 1998; Shattuck-Brandt ve Richmond, 1997; Sovak ve ark., 1997; Van Antwerp ve ark., 1996; Wang ve ark., 1996). MDA-MB-231 hücreleri NF-kB ve

VEGF'nin en yüksek ekspresyonuna sahip hücre dizisi olduğu ve NF-kB'nin baskılanmasının apoptozis mekanizmasını aktive ettiği belirtilmiştir (Bharti ve Aggarwal, 2002).

Çalışmamızda, SEL ve PTX kombinasyonunun MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı üzerindeki etkisini araştırmak için ilk olarak hücreler in vitro ortamda kültüre edildi. IC50 değerleri, hücrelere farklı konsantrasyonlarda ve farklı zamanlarda SEL uygulaması yapılarak belirlendi. SEL ve PTX ile tedavi edilen hücrelerde apoptozis ve NF-kB ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemlerle değerlendirildi. Kuppusamy ve arkadaşları SEL ve organoselenyumun insan meme kanseri hücre dizisi MDA-MB-231'in büyümesi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarında SEL IC50 dozu 34 µg/mL olarak belirlemişlerdir (Kuppusamy ve ark., 2005). Forootanfar ve diğerleri, SEL ve Se nanoparçacıklarının MCF-7 meme kanseri hücrelerinde antioksidan ve sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. MTT analizi sonrasında Se nanoparçacıklarının IC50 değerini  $41.5 \pm 0.9$  µg/mL, SEL IC50 değerini  $6.7 \pm 0.8$  µg/mL olarak belirlemişlerdir (Forootanfar ve ark., 2014). Yaming ve arkadaşları ise SEL'in üç farklı akciğer kanseri hücre hattı üzerindeki apoptotik etkilerini belirlemek istedikleri çalışmalarında 10 µM SEL dozunda hücrelerde apoptozis uyardığını göstermişlerdir (Yaming ve ark., 2004). Jia ve ark. ise çalışmalarında SEL'in COC1/DDP insan ovaryan kanser hücre hattı üzerine etkileri araştırmışlardır. MTT analizi sonrasında optimal dozu 10 µM olarak belirlemişlerdir (Jia ve ark., 2010). Bizde çalışmamızda IC50 dozunu belirlemek için amacıyla 14µM, 12 µM, 10 µM, 8 µM ve 6 µM şeklinde farklı SEL dozlarını MDA-MB-231 hücre hattı üzerine uyguladık. IC50 dozunu 12µM olarak belirledik. Dolayısıyla hücre hattı üzerinde etkinliğini gördüğümüz dozların eser miktarda olduğu sonucuna ulaştık.

Kansere karşı bir ilacın etkinliğinin gösterilmesinde birçok mekanizma kullanılabilir (Whanger, 2004). Bunlar hücre çoğalmasının ve anjiyogenezin inhibisyonu ile immün sistem ve apoptozisin uyarılmasıdır. Bu potansiyel mekanizmalar içinde çoğunlukla apoptozis üzerinde durulmaktadır (El-Bayoumy ve Sinha, 2004). Kansere karşı Se'nin potansiyel etkileri in vivo ve in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (Dennert ve ark., 2011). Bu etkileri daha çok anjiyogenez, antioksidan

etki, ekstraselüler matriks düzenlemesi, DNA hasarı, hücre döngüsü ve apoptozis gibi süreçlerle ilişkilidir (Alaejos ve ark., 2000). El-Bayoumy ve arkadaşları, Se formlarının antikanserojenik aktivitelerinin belirlenmesinde tercih edilen Se'nin kimyasal yapısının ve uygulanan dozun önemli olduğunu söylemişlerdir (El-Bayoumy ve Sinha, 2004). Watrach ve ark. yaptıkları çalışmada Se uygulamasının in vitro ortamda meme kanseri hücresi büyüme oranını azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca Se uygulamasının, konakçı üzerinde belirgin bir yan etki olmaksızın meme kanseri hücre büyümesi oranında %80-%93 azalma ile ilişkilendirmişlerdir (Watrach, 1984). Kuppusamy ve arkadaşları çalışmalarında ise SEL MCF-7 ve MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin proliferasyonunu inhibe ettikleri göstermişlerdir (Kuppusamy ve ark., 2005). Yaming ve arkadaşları, akciğer kanseri hücre dizilerinde SEL'in antikanserojenik etkisini apoptozis üzerinden gösterdiğini belirlemişlerdir (Yaming ve ark., 2004). Bununla birlikte, SEL'in PTX ile kombine kullanımının meme kanseri hücrelerindeki etkileri henüz net olarak tanımlanmamıştır. Dosetakselin Se'nin bir türevi olan metilselenosistein ile prostat kanseri hücre hatları üzerinde yapılmış antikanser etkinliğini arttırmaya yönelik çalışmada sinerjistik etki gösterdiği belirlenmiştir (Rami ve ark., 2006). Freitas ve arkadaşları ise çalışmalarında PC-3 hücre dizisi üzerine inorganik bir Se'nin formu olan sodyum selenitin dosetaksel ile kombine etkilerini araştırmışlardır. Bu kombine kullanımın hücre canlılığı üzerinde sinerjistik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Ancak kombine kullanımda proapoptotik faktörlerin uyarılmadığını söylemişlerdir (Freitas ve ark., 2011). Bizde çalışmamızda MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde SEL ve PTX kombine uygulamasının etkilerini araştırdık. SEL PTX ile kombine edildiğinde apoptozis üzerine etkileri araştırıldığında SEL'in doza bağlı olarak bu hücrelerde apoptozis uyardığı gösterildi. PTX'in de tek başına uygulanmasında kanser hücrelerini öldürdüğü belirlendi. Ancak SEL ve PTX'in kombine uygulandığı gruplarda apoptozisin azaldığı dikkati çekti. Dolayısıyla SEL'in PTX'in etkisini azalttığı sonucuna varıldı. Hücre çoğalması bulguları değerlendirildiğinde SEL ve PTX'in birlikte uygulandığı gruplarda PTX grubuna göre arttığı görüldü. Yalnızca SEL gruplarında ise doz azalmasına bağlı olarak hücre canlılığının arttığı belirlendi. Bu durum da SEL'in hücreleri ölüme götürürken apoptozdan farklı hücre ölüm yollarını da kullanabileceğini düşündürdü.

Apoptozis mekanizması oldukça kompleks bir süreç olup bu süreçte farklı moleküller görev almaktadırlar. Bir transkripsiyon faktörü olan NF-kB'da bunlardan biridir (Aggarwal, 2004). NF-kB hücrelerde pro ya da anti-apoptotik fonksiyon gösterebilmektedir. Bu durumda hangi yoldan etki edeceği apoptozis indükleyicinin yapısına göre belirlenmektedir (Kaltschmidt ve ark., 2000). Bir çalışmada p53 indüksiyonunun apoptozisin uyardığı ve NF-kB'nında ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. NF-kB inhibisyonunun ise p53 uyarımlı apoptozisi engellediği belirtilmiştir (Ryan ve ark., 2000). HT29 hücreleriyle yapılan bir çalışmada ise aspirinin apoptozis uyarıcı etkilerine NF-kB aktivasyonunun katkı sağladığı bildirilmiştir (Stark ve ark., 2007). NF-kB'nın antiapoptotik etki gösterdiği de bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Davis ve ark çalışmalarında genistein'in NF-kB 'yi inhibe ederek prostat kanseri hücrelerinde proapoptotik bir yanıtı indüklediğini belirtmişlerdir (Joanne ve ark., 1999). Çelik ise çalışmalarında sarı kantaron bitkisinin bazal hücreli karsinom hücreleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sarı kantaron bitkisinin ekstresi tedavisinin bazal hücreli karsinom hücre hatlarında apoptotik proteinlerin ekspresyonunu arttırdığı, NF-kB ekspresyonunu azalttığını göstermişlerdir (Çelik, 2021). Wang ve arkadaşları ise COX-2 inhibitörü olan selekoksib'in MDA-MB-231 ve SK-BR-3 meme kanseri hücre hatlarına etkilerini araştırmışlardır. Selekoksib'in doz ve zamana bağlı olarak apoptozisi uyardığı NF-kB'yı ise inhibe ettiğini belirtmişlerdir (Wang ve ark., 2017). Bizim çalışmamızda da SEL uygulaması sonrasında NF-kB ekspresyonunun azaldığı görüldü. Benzer şekilde yalnız PTX grubunda da NF-kB ekspresyonunun azaldığı belirlendi. SEL1+PTX, SEL2+PTX ve SEL3+PTX gruplarında ise NF-kB ekspresyonunun kontrol grubuna göre azaldığı, PTX grubuna göre arttığı gözlemlendi. Dolayısıyla SEL ve PTX uygulamasının MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde apoptozisi uyardığı, NF-kB'nın ekspresyonunu azalttığı belirlendi.

Bu çalışma, MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattında SEL ve PTX kombinasyonunun apoptozis mekanizması ve bu mekanizma da düzenleyici olarak rol oynayan transkripsiyon faktörü NF-kB üzerindeki potansiyel etkisini modellemiştir. Çıkan sonuçlarımızda SEL ve PTX'in MDA-MB-231 hücrelerini apoptoze götürdüğü belirlenmiştir. Fakat SEL-PTX'in kombinasyonunda sadece PTX'in aksiyonuna göre apoptozisi azalttığı gözlemlenmiştir. Dolayısıyla bitkisel

kökenli bileşiklerin kemoterapötiklerle kombine edilerek kullanılmasında dikkatli olunması gerektiği, kemoterapotik maddenin etkinliğini azaltması kanser tedavisinin yönünü değiştirebileceğine dikkat edilmelidir. Bundan dolayı bitkisel kökenli bileşiklerin kemoterapotiklerle birlikte uygulanmasına yönelik daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- Adams JD, Flora K, Goldspiel BR, Wilson JW, Finley R. Taxol: A History of Pharmaceutical Development And Current Pharmaceutical Concerns. J. Nat. Cancer Inst. Monogr, 1993; 15: 141-147.
- Aggarwal BB. Nuclear Factor-Kappab: The Enemy Within. Cancer Cell, 2004; 6: 203–208.
- Akdeniz A, Triple Negatif Meme Kanserlerinin Demografik Klinik Ve Patolojik Karakteristikleri. Uzmanlık Tezi. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Ankara 2019; s. 2010; 33-35
- Akşit H, Bildik A. Apoptozis. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2008;19(1):55-63.
- Alaejos MS, Romero FRD, Romero CD. Selenium And Cancer: Some Nutritional Aspects. Nutrition, 2000; 16: 376-383.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Molecular Biology Of The Cell. Fourth Edition, Garland Science, New York, 2002: 1314.
- Arbuck SG, Blaylock BA. Taxol: Clinical Results And Current Issues, In Suffness M (Ed.), Taxol: Science and Applications, Crc Press, Boca Raton, Florida, 1995; 6: 379-415.
- Arlt A, Vorndamm J, Muerkoster S, Yu H, Schmidt We, Folsch Ur, Et Al. Autocrine Production of Interleukin 1beta Coers Constitutive Nuclear Factor Kappab Activity and Chemoresistance in Pancreatic Carcinoma Cell Lines. Cancer Res, 2002;62(3):910-916.
- Aspirin Activates The Nf-Kb Signalling Pathway and Induces Apoptosis in Intestinal Neoplasia, 2012.
- Aydiner A, Topuz E. Meme Kanseri Tanı-Tedavi-Takip, İstanbul Konsensusu Nobel Tıp Kitapevleri, 2007.

- Baldwin JR. The Nf-Kappa B And I Kappa B Proteins: New Discoveries and Insight. *Annual Rev. Immunol*, 1996;14: 643–683.
- Batra RK, Guttridge DC, Brenner DA, Dubinett SM, Baldwin AS. IkappaBalpha Gene Transfer is Cytotoxic to Squamous-Cell Lung Cancer Cells and Sensitizes Them to Tumor Necrosis Factor-Alpha-Mediated Cell Death. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999;21(2):238-245.
- Berridge MV, Tan AS. Characterization of the Cellular Reduction of 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-Yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide (Mtt): Subcellular Localization, Substrate Dependence, and Involvement of Mitochondrial Electron Transport in Mtt Reduction. *Arch Biochem Biophys*. 1993; Jun, 303(2):474-482.
- Bharti AC, Aggarwal BB. Nuclear Factor-Kappa B And Cancer: Its Role In Prevention and Therapy. *Biochem Pharmacol*, 2002; 64: 883-888.
- Biswas Dk, Dai Sc, Cruz A, Weiser B, Graner E, Pardee Ab. The Nuclear Factor Kappa B (Nf-Kappa B): A Potential Therapeutic Target For Estrogen Receptor Negative Breast Cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001;98(18):10386-10391.
- Brody Jg, Rudel Ra. Environmental Pollutants and Breast Cancer. *Environmental Health Perspectives*, 2003; 111(8): 1007-1019.
- Burbank, F, Stereotactic Breast Biopsy of Atypical Ductal Hyperplasia And Ductal Carcinoma In Situ Lesions: Improved Accuracy With Directional, Vacuum-Assisted Biopsy. *Radiology*, 1997;202:3 843-847.
- Büyükyüz N, Altuğ T, Yaltırık M. Kanser Prof laksisinde Antioksidan Maddelerden E Vitamini ve Selenyumun Önemi. *Diş Hekimliğinde Klinik Derg*, 2000; 12, 136-139.
- Carey La, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, Ollila DW, Sartor CI, Graham ML, Perou CM. The Triple Negative Paradox: Primary Tumor Chemosensitivity of Breast Cancersubtypes. *Clin Cancer Res*, 2007; 13(8): 2329-2334.
- Celik E, Kaplan HM, Singirike E, Celik MS, Al H. Apoptotic and Anti-Inflammatory Effects of Hypericum Perforatum Extract in Human Basal Cell Carcinoma Te 354.T Cell Line. *Dicle Med J*, 2021; 48 (1): 92-98.

- Charles G. Wilber Clinical Toxicology Volume Toxicology of Selenium: A Review  
Pages, 1980; 17, 1: 171-230.
- Chavoshi H, Vahedian V, Saghaei S, Pirouzpanah MB, Raeisi M, Samadi N.  
Adjuvant Therapy With Silibinin Improves the Efficacy of Paclitaxel and  
Cisplatin in MCF-7 Breast Cancer Cells. Asian Pacific Journal of Cancer  
Prevention, 2017; 18: 2243- 2247.
- Chen Cd, Sawyers Cl. NF- $\kappa$ B Activates Prostate-Specific Antigen Expression  
and is Upregulated in Androgen-Independent Prostate Cancer. Mol Cell  
Biol, 2002;22(8):2862-2870.
- Chen NC, Chyau CC, Lee YJ, Tseng HC, Chou FP. Promotion of Mitotic  
Catastrophe Via Activation of Pten By Paclitaxel With Supplement  
of Mulberry Water Extract in Bladder Cancer Cells. Science Reports,  
2016;6: 20417-20427.
- Chlebowski Rt, Hendrix Sl, Langer Rd, Stefanick Ml, Gass M, Lane D, Rodabough  
Rj, Gilligan Ma, Cyr Mg, Thomson Ca, Khandekar J, Petrovitch H,  
McTiernan A Whi Investigators. Influence of Estrogen Plus Progestin on  
Breast Cancer And Mammography in Healthy Postmenopausal Women:  
The Women's Health Initiative Randomized Trial. Jama, 2003; 289: 3243-  
3253.
- Clark Wh. Tumour Progression And The Nature of Cancer. British Journal of  
Cancer, 1991; 64(4): 631-644.
- Cooper GM. The Cell: A Molecular Approach, 2nd Edition, 2000.
- Cuzick J. Epidemiology of Breast Cancer. The Breast, 2003;12:405-411
- Çelik E. İnsan Bazal Hücreli Karsinom Te 354.T Hücre Hattında Hypericum  
Perforatum Ekstraktının Apoptotik ve Anti-İnflamatuvar Etkileri. Dicle Tıp  
Dergisi, 2021; 48 (1): 92-98.
- Danial Nn, Korsmeyer Sj, Cell Death: Critical Control Points. Cell, 2004;116:205-  
219
- Dennert G, Zwahlen M, Brinkman M, Vinceti M, Zeegers MP, Horneber M.  
Selenium For Preventing Cancer. Cochrane Database Syst Rev, 2011; 11;(5)  
46-54.

- Dong Y, Ganther He, Stewart C, Ip C. Identification of Molecular Targets Associated With Selenium-Induced Growth Inhibition in Human Breast Cells Using Cdna Microarrays. *Cancer Res*, 2002;62:708–714.
- El-Bayoumy, K, Sinha, R. Mechanisms of Mammary Cancer Chemoprevention By Organoselenium Compounds. *Mutat Res*, 2004;551:181-197
- Ellis IO, Cornelisse CJ, Schnitt SJ, Sasco AJ, Sastre-Garau X, Kaaks R. Invasive Breast Carcinomas. In: Tavassoli Fa, Devilee P, Who Classification of Tumours. 80 Pathology And Genetics of Tumours of The Breast and Female Genital Organs. Lyon: Iarc Press, France, 2003; 5:13-19
- Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*, 2007;35(4):495-516.
- Emro Tehnical Publication Series Guidelines For Management of Breast Cancer. World Health Organization, 2006.
- Ernst E, Cassileth Br. The Prevalence of Complementary/Alternative Medicine İn Cancer. *Cancer*, 1998;83:777–782
- Esma K, Özbilge H, Mükerrrem Yerer B, Albayrak S, Propolisin U-937 Makrofajlarında Oksidatif Strese ve Sitokin Salınımına Etkileri 2014.
- Evenson JK, Sunde RA. Selenium Incorporation Into Selenoproteins in The Se-Adequate and Se-Deficient Rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 1988;187:169-180.
- Forootanfar H, Adeli-Sardou M, Nikkhoo M, Mehrabani M, Amir-Heidari B, Shahverdi Ar, Shakibaie M. Antioxidant And Cytotoxic Effect of Biologically Synthesized Selenium Nanoparticles in Comparison to Selenium Dioxide. *J Trace Elem Med Biol*, 2014 Jan;28(1):75-79.
- Francescato Hd, Costa RS, Rodrigues Camargo SM, Zanetti MA, Lavrador MA, Bianchi MD. Effect of Oral Selenium Administration on Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Pharmacol Res*, 2001;43:77- 82.
- Frederiks C, Lam S, Guchelaar H, Boven E. Genetic Polymorphisms and Paclitaxel-Or Docetaxel-Induced Toxicities: A Systematic Review. *Cancer Treatment Reviews*, 2015;41, 935-950.

- Freitas M, Alves V, Sarmento-Ribeiro Ab, Mota-Pinto A, Combined Effect of Sodium Selenite and Docetaxel on Pc3 Metastatic Prostate Cancer Cell Line. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011; 20 (4):713-719.
- Fujieda M, Naruse K, Hamauzu T, Miyazaki E, Hayashi Y, Enomoto R. Effect Of Selenium On Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Nephron Exp Nephrol*, 2006;104: E 112-122.
- Gallegos A, Berggren M, Gasdaska Jr, Powis G. Mechanisms of the Regulation of Thioredoxin Reductase Activity in Cancer Cells By the Chemopreventive Agent Selenium. *Cancer Res*, 1997;57:4965–4970.
- García-Rivera, D, Delgado, R, Bougarne, N, Haegeman, G, Berghe, W.V. Gallic Acid Indanone and Mangiferin Xanthone are Strong Determinants of Immunosuppressive Anti-Tumour Effects of *Mangifera Indica* L. Bark in Mda-Mb231 Breast Cancer Cells. *Cancer Letters*, 2011;305: 21-31.
- Ghosh S, Hayden Ms. New Regulators of Nf-KappaB in Inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2008; 8: 837–848.
- Gupta Rk, Patel Am, Kumari R, Chugh S, Shrivastav C, Mehra S, Sharma An. Interactions Between Oxidative Stress, Lipid Profile and Antioxidants in Breast Cancer: A Case Control Study. *Asian Pacific J. Cancer Prev*, 2012; 13: 6295-6298.
- Gupta SC, Sundaram C, Reuter S, Aggarwal BB. Inhibiting Nf-Kb Activation By Small Molecules as a Therapeutic Strategy. *Biochim Biophys Acta*, 2010; 1799(10-12): 775-787.
- Hankinson SE, Colditz GA, Manson JE, Willett WC, Hunter DJ, Stampfer MJ, Speizer Fe. A Prospective Study of Oral Contraceptive Use and Risk of Breast Cancer. *Cancer Causes Control*, 1997; 8: 65-72.
- Hotchkiss Rs, Strasser A, McDunn Je, Swanson Pe. Cell Death in Disease: Mechanisms and Emerging Therapeutic Concepts. *N Engl J Med*, 2009; 361(16): 1570-1580.
- Hu Jia, Sisun LIU, Yun LI. Effect of Selenium Dioxide on Cisplatin Resistance in Ovarian Carcinoma Cell Line C0c1/Ddp. *Modern Preventive Medicine*, 2010; 37.(13): 2569-2573.

- Hwang ES, Lichtensztajn DY, Gomez SL, Fowble B, Clarke CA. Survival After Lumpectomy Andmastectomy For Early Stage Invasive Breast Cancer: The Effect of Age And Hormone Receptorstatus. *Cancer*, 2013; 119: 1402-1411.
- Iglesias P, Selgas R, Romero S, Díez Jj. Selenium and Kidney Disease. *J Nephrol*, 2013;26(2):266-272
- Jeremias I, Kupatt C, Baumann B, Herr I, Wirth T, Debatin Km. Inhibition of Nuclear Factor Kappab Activation Attenuates Apoptosis Resistance in Lymphoid Cells. *Blood*, 1998;91(12):4624-4631.
- Jia H, Sisun L, Yun L. Effect of Selenium Dioxide on Cisplatin Resistance in Ovarian Cell Carcinoma Cell Line Coc1/Ddp. *Modern Preventive Medicine*, 2015; 37(13): 2569-2571.
- Jiang C, Ganther H, Lu J. Monomethyl Seleniums specific Inhibition of Mmp-2 and Vegf Expression: Implications for Angiogenic Switch Regulation. *Mol Carcinog*, 2000;29:236–520.
- Jiang Q, Yang M, Qu Z, Zhou J, Zhang Q. Resveratrol Enhances Anticancer Effects of Paclitaxel in Hepg2 Human Liver Cancer Cells. *Bmc Complementary and Alternative Medicine*, 2017; 17: 477-499.
- Joanne N, Davis, Omer K, Fazlul H. Sarkar, Genistein Inhibits Nf-Kb Activation In Prostate Cancer Cells, *Nutrition And Cancer*, 1999; (2), 35: 167-174,
- Jordan MA, Wendell K, Gardiner S, Derry WB, Copp H, Wilson L. Mitotic Block Induced in Hela Cells By Low Concentrations of Paclitaxel (Taxol) Results in Abnormal Mitotic Exit and Apoptotic Cell Death. *Cancer Research*. 1996; 53:816-825.
- Kaltschmidt B, Kaltschmidt C, Hof mann TG, Hehner SP, Droge W, Schmitz ML. The Pro- Or Anti-Apoptotic Function of Nf-Kappab is Determined By The Nature of the Apoptotic Stimulus. *Eur J Biochem*, 2000;267(12):3828-3235.
- Karin M, Lawrence T, Nizet V. Innate Immunity Gone Awry: Linking Microbial Infections to Chronic Inflammation and Cancer. *Cell*, 2006; 124: 823-835.
- Karlığa B, Talınlı N. 3'-N-Tiyokarbamat Paklitaksel Türevlerinin Sentezi ve Biyolojik Aktivite Çalışmaları. *Fen Bilimleri GTÜ Dergisi*, 2004; 2(1): 25-30.

- Kaya E, Özbilge H, Yerer Mb, Albayrak S. Propolisin U-937 Makrof ajlarında Oksidatif Strese ve Sitokin Salınımına Etkileri, 2014.
- Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş, Ramazan Demir, Palme Yayınları, 2006; 90-91.
- Koçak S, Çelik L, Özbaş S, Sak Sd, Tükün A, Yalçın B. Meme Kanseri Risk Faktörleri, Riskin Değerlendirilmesi ve Prevansiyon: İstanbul 2010 Konsensus Raporu. The Journal of Breast Health, 2011; 7(2): 47-67.
- Kroemer G, Galluzi L, Brenner C. Mitochondrial Membrane Permeabilization in Cell Death. Physiol Rev, 2007;87:99-163.
- Kuppusamy UR, Wan YP, Kanthimathi MS. A Comparison Between Selenium Dioxide and Selenium Methionine Induced Cytotoxicity in Estrogen Receptor Negative and Positive Breast Cancer Cell Lines. Journal of Food Technology, 2005; 3(3): 280-283.
- Law M, Elmore S. Mechanisms of Cell Death. Smart RC, Hodgson E, Editors. Molecular and Biochemical Toxicology. New Jersey: John Wiley & Sons; 2008.
- Letavayova L, Vlckova V, Brozmanova J. Selenium: From Cancer Prevention to Dna Damage. Toxicology, 2006;227:1-14.
- Lin Ww, Karin M. A Cytokine-Mediated Link Between Innate Immunity, Inflammation and Cancer. The Journal of Clinical Investigation. 2007;117(5): 1175-1183.
- Lind Ds, Hochwald Sn, Malaty J, Rekkas S, Hebig P, Mishra G. Nuclear Factor-Kappa B is Upregulated in Colorectal Cancer. Surgery, 2001;130(2):363-369.
- Mahan DC. Organic Selenium: Using Nature's Model to Redefine Selenium Supplementation for Animals. Proceedings of the 15th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium. 1999;3: 523- 535.
- Marchbanks PA, Mcdonald JA, Wilson HG, Folger SG, Mandel MG, Daling JR, Bernstein L, Malone KE, Ursin G, Strom BL, Norman SA, Wingo PA, Burkman RT, Berlin JA, Simon MS, Spirtas R, Weiss LK. Oral Contraceptives and the Risk of Breast Cancer. N Engl J Med, 2002; 346: 2025-2032.

- McGrogan Bt, Gilmartin B, Carney DN, Mccann A. Taxanes, Microtubules and Chemoresistant Breast Cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2008; 1785(2):96–132.
- Mechanisms of Tumor Necrosis Factor-Alpha-Induced Interleukin-6 Synthesis in Glioma Cells. *J Neuroinflammation*, 2010; 7:16-24.
- Million Women Study Collaborators. Breast Cancer And Hormonereplacement Therapy in The Million Women Study. *Lancet*, 2003; 362: 419-427.
- Nabekura T. Overcoming multidrug resistance in human cancer cells by natural compounds. *Toxins (Basel)*, 2010 Jun;2(6):1207-1224.
- Němcová-Fürstová V, Kopperová D, Balušíková K, Ehrlichová M, Brynychová V, Václavíková R, Daniel P, Souček P, Kovář J. Characterization of Acquired Paclitaxel Resistance of Breast Cancer Cells and Involvement of Abc Transporters. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2016; 310, 215-228.
- Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs Over the Last 25 Years. *Journal of Natural Products*, 2007;70, 461-477.
- Nishikori M. Classical And Alternative Nf-Kb Activation Pathways and Their Roles in Lymphoid Malignancies. *J. Clin. Exp. Hematopathol*, 2005: 45(1): 15-24
- Orlowski RZ, Baldwin AS. Nf-Kb As A Therapeutic Target in Cancer. *Trends in Molecular Medicine*, 2002; 8(8): 385-389.
- Öztürk M, Ergin Us, Kişioğlu A. Effect of Education on Knowledge and Attitude of Breast Self Examination Among 25+Years Old Women. *Eastern Journal of Medicine* 2000;5(1):13-17.
- Pahl Hl. Activators and Target Genes of Rel/Nfkappab Transcription Factors. *Oncogene*, 1999;18(49):6853-6866.
- Panchagnula R. Pharmaceutical Aspects of Paclitaxel. *International Journal of Pharmaceutics*, 1998; 172:1-15.
- Parrondo R, Pozas A, Reiner T, Rai P, Perez-Stable C. Nf-Kappab Activation Enhances Cell Death By Antimitotic Drugs in Human Prostate Cancer Cells. *Mol Cancer*, 2010;9: 182-186.

- Rami G. Azrak, Cheryl L. Frank, Xiang Ling. The Mechanism of Methylselenocysteine and Docetaxel Synergistic Activity in Prostate Cancer Cells, *Mol Cancer Ther* 2006;5:2540-2548.
- Ross Mh And Pawlina W. *Histoloji Konun Anlatımı ve Atlas*. Barış Baykal, Palme Yayıncılık, Ankara, 2014; 996: 41-47.
- Rundall BK, Denlinger CE, Jones DR. Combined Histone Deacetylase and Nf-Kb Inhibition Sensitizes Non-Small Cell Lung Cancer to Cell Death. *Surgery*, 2004;136: 416-425
- Russel JP, Jackson P, Kingsley AE. *Methods in Molecular Medicine Vol:81, Prostate Cancer Methods and Protocols*, Humana Press, New Jersey, ABD, 2003.
- Ryan Km, Ernst Mk, Rice Nr, Vousden Kh. Role of Nf-Kappab in P53-Mediated Programmed Cell Death. *Nature*, 2000; (6780)20: 892-897.
- Sasaki N, Morisaki T, Hashizume K, Yao T, Tsuneyoshi M, Noshiro H. Nuclear Factor-kappa B (Rela) Transcription Factor is Constitutively Activated in Human Gastric Carcinoma Tissue. *Clin Cancer Res* 2001;7(12):4136-4142.
- Sasco Ja. Epidemiology of Breast Cancer: an Environmental Disease *Apmis* 2001; 109: 321-332.
- Saurel CA, Patel TA, Perez EA. Changes to Adjuvant Systemic Therapy in Breast Cancer: A Decade in Review. *Clin Breast Cancer*, 2010; 10: 196-208.
- Schomburg L, Schweizer U, Köhrle J. Selenium and Selenoproteins in Mammals: Extraordinary, Essential, Enigmatic. *Cell Mol Life Sci*, 2004; 61(16):1988-1995.
- Sen R, Baltimore D. Inducibility of Kappa Immunoglobulin Enhancerbinding Protein Nf-Kappa B By A Posttranslational Mechanism. *Cell*, 1986;47: 921-928
- Shattuck-Brandt RL, Richmond A. Enhanced Degradation of I-Kappa B Alpha Contributes to Endogenous Activation of Nf-Kappa B In Hs294t Melanoma Cells. *Cancer Res*, 1997;57(14):3032-3039.
- Shishodia S, Aggarwal BB. Nuclear Factor-Kb: A Friend or A Foe in Cancer *Biochem Pharmacol*, 2004;68: 1071-1080.

- Singletary Se. Rating The Risk Factors For Breast Cancer. *Ann Surg*, 2003; 237: 474-482.
- Smaili SS, Hsu Yt, Youle Rj, Russell Jt. Mitochondria in  $Ca^{2+}$  Signaling and Apoptosis. *J Bioenerg Biomembr*, 2000;32(1):35-46.
- Somunoglu S. Meme Kanseri: Belirtileri ve Erken Tanıda Kullanılan Tarama Yöntemleri. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi*, 2009; 4: 103-122.
- Somunoğlu S. Meme Kanserinde Risk Faktörleri. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi* 2007; 2(5)5: 2-12
- Sovak MA, Bellas RE, Kim DW, Zanieski GJ, Rogers AE, Traish AM. Aberrant Nuclear Factor-kappaB/Rel Expression and the Pathogenesis of Breast Cancer. *J Clin Invest*, 1997;100(12):2952-2960.
- Sprouse AA, Herbert Bs. Resveratrol Augments Paclitaxel Treatment in Mda-Mb-231 And Paclitaxel-Resistant Mda-Mb-231 Breast Cancer Cells. *Anticancer Res*, 2014 Oct;34(10):5363-5374.
- Stark LA, Reid K, Sansom OJ, Din FV, Guichard S, Mayer I. Aspirin Activates The Nf-KappaB Signalling Pathway and Induces Apoptosis in Intestinal Neoplasia in Two in Vivo Models of Human Colorectal Cancer. *Carcinogenesis*, 2007;28(5):968-976.
- Su F, Schneider Rj. Hepatitis B Virus Hbx Protein Activates Transcription Factor Nf-KappaB By Acting on Multiple Cytoplasmic Inhibitors of Rel-Related Proteins. *J Virol*, 1996 Jul;70(7):4558-4566.
- Surai PF. Organic Selenium: Benefits to Animals And Humans, A Biochemist's View. *Proceedings of The 15th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium*. 2000;3: 205-242.
- Tai DI, Tsai SI, Chang YH, Huang SN, Chen TC, Chang KS. Constitutive Activation of Nuclear Factor KappaB in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer*, 2000;89(11):2274-2281.
- Tanabe K, Matsushima-Nishiwaki R, Yamaguchi S, Iida H, Dohi S, Kozawa O. Mechanisms of Tumor Necrosis Factor-Alpha-Induced Interleukin-6 Synthesis in Glioma Cells. *J Neuroinflammation*, 2010; (6)7:16-22.
- Tang HL, Yuen KL, Tang HM, Fung MC. Reversibility of Apoptosis in Cancercells. *British Journal of Cancer*, 2009; 100: 118 – 122

- Tank X, Liu D, Shishodia S, Ozburn N, Behrens C. Nuclear Faktor Kappa B is Frequently Expressed in Lung Cancer And Preneoplastic Lesions. *Cancer*, 2006;107: 2637-2646.
- Thompson Cb. Apoptosis. In: Paul We, Ed. *Fundamental Immunology*. Lippincott-Raven Publishers. 1999.
- Tinghua XU, Pengxi LIU, Qingming LI, Changbin SHI, Xinjie Wang Inhibitory Effects of Everolimus in Combination With Paclitaxel on Adriamycin-Resistant Breast Cancer Cell Line Mda-Mb-231. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2020; 59(6): 828-834.
- Tomatır Ag. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *T Klin J Med Sci*, 2003;23(6):499-508.
- Torres K, Horwitz Sb. Mechanisms of Taxol-Induced Cell Death are Concentration Dependent. *Cancer Research*, 1998; 58:3620-3626.
- Türk BÜ, Çemberci Ç, Padir N, Bilgiç Ad, Taşdemir M, Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, Via Hospital Nöroloji Kliniği, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Halk Sağlığı Anabilim Dalı Okmeydanı Tıp Dergisi, 2016; 32(2):69-74.
- University of Maryland Medical Center.  
[Http://www.Umm.Edu/Patiented/Articles/What\\_Chemotherapy\\_Treatments\\_Brea\\_St\\_Cancer\\_000006\\_11.Ht](http://www.Umm.Edu/Patiented/Articles/What_Chemotherapy_Treatments_Brea_St_Cancer_000006_11.Ht) (et.12.09.2022).
- Utkan Z, Esen G, Yavuz E, Meme Kanserinde Tanı. *Meme Sağlığı Dergisi*, 2007: (3)2:21-27.
- Van Antwerp Dj, Martin Sj, Kafri T, Green Dr, Verma Im. Suppression of Tnf-Alpha-Induced Apoptosis by Nf-Kappab. *Science*, 1996;274(5288):787-789.
- Wang G, Li J, Zhang L, Huang S, Zhao X, Zhao X. Celecoxib induced apoptosis against different breast cancer cell lines by down-regulated NF-kB pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2017;490: 969-976.
- Wang Cy, Mayo Mw, Baldwin As Jr. Tnf- and Cancer Therapy-Induced Apoptosis: Potentiation By İnhibition of Nf-Kappab. *Science*, 1996;274(5288):784-787.
- Wang W, Abbruzzese JL, Evans Db, Chiao PJ. Overexpression of Urokinase-Type

- Plasminogen Activator in Pancreatic Adenocarcinoma is Regulated by Constitutively Activated RelA. *Oncogene*, 1999;18(32):4554-4563.
- Wani MC, Taylor HL, Wall ME, Coggon P, Mcphail AT. Plant Antitumor Agents. VI. The Isolation and Structure of Taxol, A Novel Antileukemic And Antitumor Agent From *Taxus Brevifolia* J. Am. Chem. Soc, 1971; 93(9): 2325-2327.
- Watrach Am, Milner Ja, Watrach Ma, Poirier Ka. Inhibition of Human Breast Cancer Cells By Selenium. *Cancer Lett*, 1984;25:41-47.
- Whanger PD. Selenium and Its Relationship to Cancer: An Update. *Br J Nutr*; 2004;91: 11-28.
- Wilber CG. Toxicology of Se: A Review. *Clin. Toxicol.* 1980; 17:171-230.
- Wolffram S. Absorption and Metabolism of Selenium: Differences Between Inorganic and Organic Sources. *Proceedings of the 15th Annual Biotechnology in the Feed Industry Symposium*, 1999;4: 547-566.
- Yamanaka N, Sasaki N, Tasaki A, Nakashima H, Kubo M, Morisaki T. Nuclear Factor-KappaB P65 is A Prognostic Indicator in Gastric Carcinoma. *Anticancer Res*, 2004;24(2c):1071-1075.
- Yaming W, Hai B, Haijian Y, Xiyang Z. Effects of Selenium Dioxide on Apoptosis, Bcl-2 And P53 Expression, Intracellular Reactive Oxygen Species and Calcium Level in Three Human Lung Cancer Cell Lines. *Chinese-German J Clin Oncol*, 2004; 3:141-146.
- Yarımca G, Durmuş S. Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kanserin Tarihçesi, 2013.
- Yerlikaya S, Zengin G, Mollica A, Baloglu MC, Celik-Altunoglu Y, Aktumsek A. A Multidirectional Perspective For Novel Functional Products: in Vitro Pharmacological Activities and in Silico Studies on *Ononis Natrix* Subsp. *Hispanica*. *Frontiers in Pharmacology*, 2017;8: 600-614.
- Yılmaz E, Altunok V. Kanser ve P53 Geni. *Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2011; 1: 19-23.
- Yokota J, Kohno T. Molecular Footprints of Human Lung Cancer Progression. *Cancer Sci*, 2004; 95(3): 197-204.

Yokota J. Tumor Progression and Metastasis. *Carcinogenesis*, 2000; 21(3): 497-503.

Zhang L, Huang S, Zhao X, Zhao X. Celecoxib Induced Apoptosis Against Different Breast Cancer Cell Lines By Down-Regulated Nf-Kb Pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017; 490:969-976.

Zhang L, Wu C, Mu S, Xue W, Ma D. A Chemotherapeutic Self-Sensitized Drug Carrier Delivering Paclitaxel For The Enhanced Chemotherapy to Human Breast Mda-Mb-231 Cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019;181:902-909.



## Yüksek Lisans Tez

### ORJİNALLİK RAPORU

%**21**  
BENZERLİK ENDEKSİ

%**20**  
İNTERNET KAYNAKLARI

%**5**  
YAYINLAR

%  
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

|   |                                                                                                                                              |     |
|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1 | <a href="http://acikbilim.yok.gov.tr">acikbilim.yok.gov.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                           | %10 |
| 2 | <a href="http://88836955-4e78-4855-9c8a-e3452c55ca11.filesusr.com">88836955-4e78-4855-9c8a-e3452c55ca11.filesusr.com</a><br>İnternet Kaynağı | %2  |
| 3 | <a href="http://docplayer.biz.tr">docplayer.biz.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                                   | %2  |
| 4 | <a href="http://acikerisim.aku.edu.tr">acikerisim.aku.edu.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                         | %1  |
| 5 | <a href="http://dspace.akdeniz.edu.tr">dspace.akdeniz.edu.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                         | %1  |
| 6 | <a href="http://www.freepatentsonline.com">www.freepatentsonline.com</a><br>İnternet Kaynağı                                                 | %1  |
| 7 | <a href="http://acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080">acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080</a><br>İnternet Kaynağı                               | %1  |
| 8 | <a href="http://acikerisim.uludag.edu.tr">acikerisim.uludag.edu.tr</a><br>İnternet Kaynağı                                                   | <%1 |
| 9 | <a href="http://pdffox.com">pdffox.com</a><br>İnternet Kaynağı                                                                               | <%1 |

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Seda BULUT

**Uyruğu** : Türkiye Cumhuriyeti

### EĞİTİM BİLGİLERİ

**Yüksek Lisans** : Erciyes Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı  
(2019-Halen).

**Lisans** : Bartın Üniversitesi Moleküller Biyoloji ve Genetik  
2017

**Yabancı Dil** : İngilizce