



T. C.
KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ASTAKSANTİNİN MEME VE SERVİKS KANSERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

BEGÜM EDİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR-AĞUSTOS/2025



T. C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ASTAKSANTİNİN MEME VE SERVİKS KANSERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

BEGÜM EDİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

I. DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURNA SALTOĞLU

II. DANIŞMAN

Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

KIRŞEHİR-AĞUSTOS/2025

KABUL VE ONAY

Astaksantinin Meme ve Serviks Kanseri Üzerine Etkisinin Araştırılması adlı bu çalışma 27.08.2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Dr.Öğr.Üyesi Gamze TURNA SALTOĞLU (1.Danışman)

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Prof.Dr. Serap YALÇIN AZARKAN (2.Danışman)

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Prof.Dr. Elif SEVİM

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Doç.Dr. Nuray VAROL

Gazi Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Doç.Dr. Asuman Deveci Özkan

Sakarya Üniversitesi

Tıp Fakültesi

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade kaynağını eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm.

Bu tez çalışması, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü TIP.A4.23.001, TIP.A4.22.003 ve TIP.A4.25.005 numaralı projeler kapsamında desteklenmiştir.

Begüm EDİZ

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitim süreci ve tez çalışmamın tüm aşamasında desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerini daima sabırla paylaşan çok değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURNA SALTOĞLU' na ve Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN' a büyük bir içtenlikle teşekkür ederim.

Beni bu günlere sevgi ve saygı kelimelerinin anlamlarını bilecek şekilde yetiştirerek getiren ve benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen bu hayattaki en büyük şansım olan aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Bu zorlu süreçte beni asla yalnız bırakmayan, her zaman yanımda olan en büyük destekçim Cihad DEMİRBAŞ' a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmamda yardımlarını benden esirgemeyen en yakın arkadaşım Melike ERDURAN'a katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ağustos 2025

Begüm EDİZ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xii
ÖZET	xiv
ABSTRACT	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanser	3
2.1.1. Apoptoz.....	4
2.1.2. İnvazyon ve Metastaz	4
2.2. Matriks Metalloproteinazlar.....	5
2.3. Matriks Metalloproteinaz-2 (MMP2)	6
2.4. Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP9)	8
2.5. Nükleer Faktörü Kappa-B (NFkB)	9
2.6. Meme Kanseri.....	11
2.6.1. Meme Kanseri Evrelemesi ve Sınıflandırılması	12
2.7. Rahim Ağzı (Serviks) Kanseri.....	13
2.7.1. İnsan Papilloma Virüsü (HPV)	13
2.7.2. Serviks Kanseri Evrelemesi ve Sınıflandırılması	14
2.8. Astaksantin.....	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Hücre Hatları.....	17

3.1.2.	Kimyasal ve Reaktifler	17
3.1.3.	Makine ve Teçhizat.....	18
3.2.	YÖNTEM	18
3.2.1.	Hücre Kültürü	18
3.2.1.1.	HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hatlarının Geliştirilmesi.....	18
3.2.1.2.	Sitotoksosite Analizi	19
3.2.1.3.	RNA İzolasyonu, cDNA Sentezi ve Gerçek Zamanlı (real-time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	20
3.2.1.4.	Western Blot Deneyi.....	21
3.2.1.5.	MDA-MB-231 ve HeLa Hücre Hatlarının Yara İyileştirme (Migrasyon) Deneyi.....	21
3.2.1.6.	MDA-MB-231 ve HeLa Hücre Hatlarının İnvazyon Deneyi	21
3.2.1.7.	Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz.....	22
4.	BULGULAR	23
4.1.	Sitotoksosite Analiz Sonuçları.....	23
4.2.	Migrasyon Deney Sonuçları	24
4.2.1.	MDA-MB-231 Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları	24
4.2.1.1.	10 µM AXT Sonuçları	25
4.2.1.2.	25 µM AXT Sonuçları	26
4.2.1.3.	50 µM AXT Sonuçları	26
4.2.1.4.	100 µM AXT Sonuçları	27
4.2.1.5.	250 µM AXT Sonuçları	27
4.2.2.	HeLa Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları.....	28
4.2.2.1.	10 µM AXT Sonuçları	29
4.2.2.2.	25 µM AXT Sonuçları	29
4.2.2.3.	50 µM AXT Sonuçları	30
4.2.2.4.	100 µM AXT Sonuçları	31
4.2.2.5.	250 µM AXT Sonuçları	31
4.3.	İnvazyon Deneyi Sonuçları.....	32
4.3.1.	MDA-MB-231 İnvazyon Deneyi Sonuçları.....	32
4.3.1.1.	25 µM AXT Sonuçları	33
4.3.1.2.	50 µM AXT Sonuçları	33
4.3.1.3.	100 µM AXT Sonuçları	34

4.3.2.	HeLa İnvazyon Deneyi Sonuçları	35
4.3.2.1.	25 µM AXT Sonuçları	36
4.3.2.2.	50µM AXT Sonuçları	36
4.4.	Gerçek Zamanlı (Real-Time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları.....	37
4.4.1.	MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, NFkB mRNA Ekspresyon Düzeyleri	37
4.4.2.	Hela Serviks Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, Nfkb Mrna Ekspresyon Düzeyleri	39
4.5.	Western Blot Deneyi Sonuçları	41
4.5.1.	MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, Nfkb Protein Ekspresyon Düzeyleri	41
4.5.2.	Hela Serviks Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, Nfkb Protein Ekspresyon Düzeyleri	41
5.	TARTIŞMA.....	42
	KAYNAKLAR.....	45
	ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: MMP2'in yapısı (158).	8
Şekil 2.2: MMP9 yapısı (159).	9
Şekil 2.3: NF-kB transkripsiyon faktörlerinin Aktivasyonu (90).	11
Şekil 2.4: AXT'in 3D yapısı (160).	16
Şekil 3.1: MDA-MB-231 Hücre Hattı	19
Şekil 3.2: HeLa Hücre Hattı.....	19
Şekil 4.1: MDA-MB-231 hücre hatlarında AXT'in sitotoksik etkisi (*: $p<0,05$)	23
Şekil 4.2: HeLa hücre hatlarında AXT'in sitotoksik etkisi(*: $p<0,05$).....	24
Şekil 4.3: Kontrol MDA-MB-231 hücre hattı migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. Kontrol 24. saat; B. Kontrol 48. saat; C. Kontrol 72. saat).....	25
Şekil 4.4: 10 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 10 μ M AXT 24. saat; B. 10 μ M AXT 48. saat; C. 10 μ M AXT 72. saat).....	25
Şekil 4.5: 25 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 25 μ M AXT 24. saat; B. 25 μ M AXT 48. saat; C. 25 μ M AXT 72. saat).....	26
Şekil 4.6: 50 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 50 μ M AXT 24. saat; B. 50 μ M AXT 48. saat; C. 50 μ M AXT 72. saat).....	26

Şekil 4.7: 100 µM AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 100 µM AXT 24. saat; B. 100 µM AXT 48. saat; C. 100 µM AXT 72. saat)	27
Şekil 4.8: 250 µM AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 250 µM AXT 24. saat; B. 250 µM AXT 48. saat; C. 250 µM AXT 72. saat)	27
Şekil 4.9: AXT uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarında yara kapanma grafiği (*p<0,05).	28
Şekil 4.10: Kontrol HeLa hücre hattı migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. Kontrol 24. saat; B. Kontrol 48. saat; C. Kontrol 72. saat).....	29
Şekil 4.11: 10 µM AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 10 µM AXT 24. saat; B. 10 µM AXT 48. saat; C. 10 µM AXT 72. saat)..	29
Şekil 4.12: 25 µM AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 25 µM AXT 24. saat; B. 25 µM AXT 48. saat; C. 25 µM AXT 72. saat)..	30
Şekil 4.13: 50 µM AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 50 µM AXT 24. saat; B. 50 µM AXT 48. saat; C. 50µM AXT 72. saat)...	30
Şekil 4.14: 100 µM AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 100 µM AXT 24. saat; B. 100 µM AXT 48. saat; C. 100 µM AXT 72. saat)	31
Şekil 4.15: 250 µM AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 250 µM AXT 24. saat; B. 250 µM AXT 48. saat; C. 250 µM AXT 72. saat)	31
Şekil 4.16: AXT uygulanmış Hela hücre hatlarında yara kapanma grafiği.(*p<0,05).	32
Şekil 4.17: Kontrol MDA-MB-231 hücre hattı invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).....	33
Şekil 4.18: 25 µM AXT uygulanan MDA-MB-231 invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).....	33

Şekil 4.19: 50 µM AXT uygulanan MDA-MB-231 invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).....	34
Şekil 4.20: 100 µM AXT uygulanan MDA-MB-231 invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).....	34
Şekil 4.21: AXT uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarında invazyon analizi grafiği(*p<0,05).....	35
Şekil 4.22: Kontrol HeLa invazyon deneyi sonuçları	35
Şekil 4.23: 25 µM AXT uygulanan invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü)	36
Şekil 4.24: 50µM AXT uygulanan invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü)	36
Şekil 4.25: AXT uygulanmış Hela hücre hatlarında invazyon analizi grafiği. (*p<0,05).37	
Şekil 4. 26: MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB mRNA ekspresyon düzeyleri.....	38
Şekil 4. 27: HeLa serviks kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB mRNA ekspresyon düzeyleri.....	40
Şekil 4.28: MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB protein ekspresyon düzeyleri	41
Şekil 4.29: HeLa serviks kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB protein ekspresyon düzeyleri	41

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: Serviks kanseri evreleri (FIGO 2018)	14
Tablo 3.1: Çalışmada kullanılan kimyasallar ve reaktifler	17
Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan makine ve teçhizat	18
Tablo 3.3: Gerçek zamanlı PCR primer dizileri	20

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	:	Açıklama
2D	:	2 boyutlu
A549	:	Buronkoalveoler hücreli karsinom
ADAM	:	Disintegrin ve metalloproteinazlar
AXT	:	Astaksantin
BCA	:	Biçinkokronik asit
BM	:	Bazal membran
BRCA1	:	Meme kanseri tip 1 duyarlılık proteini
BRCA2	:	Meme kanseri tip 2 duyarlılık proteini
CAM	:	Hücre-hücre adezyon molekülleri
Cdna	:	Tamamlayıcı DNA
DCIS	:	Duktal Karsinom In Situ
DMSO	:	Dimetil sülfoksit
DNA	:	Deoksiriboz nükleik asit
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
ECL	:	Gelişmiş kemilüminesans substratları solüsyonu
ECM	:	Ekstrasellüler matriks
EMT	:	Epitelyal-mezenkimal geçiş
ER+	:	Östrojen Reseptörü
FasL	:	Fas ligandı
FBS	:	Fetal bovin serum
FDA	:	Gıda ve ilaç idaresi
H1703	:	Skvamöz hücreli karsinom
HER2-	:	İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
HPV	:	İnsan papilloma virüsü
IKB	:	İnhibitör kappa B

IKK	:	IKB kinaz
IPP	:	İzopentenil difosfat
JAK/STAT aktivatörü	:	Janus kinazlar/sinyal dönüştürücüsü ve transkripsiyon
JB6P+	:	Fare epidermal hücre hattı
kDa	:	Kilo Dalton
IC50	:	Ortalama öldürücü doz
MAPK	:	Mitojenle etkileşen protein kinaz
MEP	:	Metileritritol fosfat
MMP-14	:	Matriks metalloproteinaz 14
MMP-23A	:	Matriks metalloproteinaz 23 A
MMP-23B	:	Matriks metalloproteinaz 23 B
MMP2	:	Matriks metalloproteinaz 2
MMP9	:	Matriks metalloproteinaz 9
MVA	:	Mevalonat
NFkB	:	Nükleer faktörü kappa-b
OH	:	Hidroksil
PBS	:	Phosphate buffered saline
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
PR+	:	Progesteron Reseptörü
PVDF	:	Poliviniliden florür
RNA	:	Ribonükleik asid
RPMI 1640	:	Roswell Park Memorial Institute 1640
TGS	:	Tümör baskılayıcı genler
TIMP	:	MMP doku inhibitörü
TRAIL	:	TNF ile ilişkili apoptozis indükleyen ligand
UV	:	Ultraviyole
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)
XTT	:	Hücre proliferasyon tes

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Astaksantin Meme ve Serviks Kanseri Üzerine Etkisinin Araştırılması

BEGÜM EDİZ

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

1. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Gamze TURNA SALTOĞLU

2. Danışman: Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

Kanser, dünya genelinde en yaygın ölüm nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Özellikle meme ve serviks kanserleri, kadınlar arasında en sık görülen kanser türleri arasında yer almaktadır. Doğal bir karotenoid türevidir olan astaksantin, bitkilerde ve deniz ürünlerinde yaygın olarak bulunmakta olup, güçlü antioksidan özelliğiyle dikkat çekmektedir. Astaksantin aynı zamanda proapoptotik, antikanser ve antiinflamatuvar gibi çeşitli biyolojik etkilere de sahiptir. Bu tez çalışmasında, astaksantin MDA-MB-231 meme kanseri ve HeLa serviks kanseri hücre hatları üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında, astaksantin uygulamasının hücre canlılığı ve proliferasyonu üzerindeki etkileri, yara iyileşmesi (wound healing), invazyon hareketlerindeki değişiklikler, sitotoksik etkileri ile MMP2, MMP9 ve NfκB genlerinin mRNA ve protein düzeylerindeki ekspresyon değişikliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Sitotoksisite testi ile MDA-MB-231 meme kanseri ve HeLa serviks kanseri hücrelerinin canlılığı ve çoğalma kapasitesi değerlendirildi. qRT-PCR ile, MMP2, MMP9 ve NFκB mRNA ifadenme düzeyleri, western blot analizi ile de bu genlerin protein ifadenme düzeyleri belirlendi. Ek olarak, astaksantin hücreler üzerindeki mekanistik etkilerini değerlendirmek için invazyon ve migrasyon deneyleri gerçekleştirildi. Sitotoksisite analizinde kanser hücrelerine 10-250 µM aralığında astaksantin uygulanmış ve MDA-MB-231 hücre hattında 25µM IC₅₀ değeri ve

Hela hücre hatlarında 50µM IC₅₀ değeri bulunmuştur. Migrasyon ve invazyon analizleri, IC₅₀ dozlarının etkili olduğunu göstermiştir. Moleküler araştırmalar, astaksantin uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri ve HeLa serviks kanseri hücrelerinde MMP2, MMP9 ve NFκB genlerinin mRNA ve protein ekspresyonlarında değişimlerin olduğunu gösterdi. Astaksantin, antikanser özellikleri nedeniyle kanser tedavisinde potansiyel bir terapötik ajan olarak değerlendirilebilir. Ancak, astaksantin tümör hücreleri üzerindeki moleküler etkilerinin tam olarak anlaşılabilmesi için daha kapsamlı in vitro ve in vivo çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Ağustos 2025, 77 Sayfa

Anahtar Kelimeler: Astaksantin, MMP2, MMP9, NFκB, Kanser

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

Investigation of the Effect of Astaxanthin on Breast and Cervical Cancer

Begüm EDİZ

Kırşehir Ahi Evran University

Institute of Health Sciences

Department of Medical Biology

1st Supervisor: Asst. Prof. Gamze TURNA SALTOĞLU

2nd Supervisor: Prof. Dr. Serap YALÇIN AZARKAN

Cancer remains one of the leading causes of mortality worldwide. Among women, breast and cervical cancers are among the most commonly diagnosed types. Astaxanthin, a naturally occurring carotenoid derivative found abundantly in plants and marine organisms, is known for its strong antioxidant properties. In addition to its antioxidant capacity, astaxanthin exhibits various biological activities, including pro-apoptotic, anticancer, and anti-inflammatory effects. This thesis aims to investigate astaxanthin's effects on MDA-MB-231 breast cancer and HeLa cervical cancer cell lines. Specifically, the study focuses on evaluating the impact of astaxanthin treatment on cell viability and proliferation, wound healing capacity, changes in invasion potential, cytotoxic effects, and the expression levels of MMP2, MMP9, and NfκB genes at both mRNA and protein levels. The cytotoxicity assay assessed the viability and proliferative capacity of MDA-MB-231 breast cancer and HeLa cervical cancer cells. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to determine the mRNA expression levels of MMP2, MMP9, and NF-κB, at the same time, western blot analysis was performed to evaluate the corresponding protein expression levels. Additionally, invasion and migration assays were conducted to investigate astaxanthin's mechanistic effects on cancer cells' metastatic behavior. In the cytotoxicity analysis,

astaxanthin was applied to cancer cells at concentrations ranging from 10 to 250 μM concentrations. The IC_{50} value was determined to be 25 μM for the MDA-MB-231 breast cancer cell line and 50 μM for the HeLa cervical cancer cell line. Migration and invasion assays demonstrated that these IC_{50} doses effectively inhibited cell movement and invasive potential. Molecular analyses revealed that astaxanthin treatment induced changes in the mRNA and protein expression levels of MMP2, MMP9, and Nf κ B genes in both MDA-MB-231 and HeLa cells. Astaxanthin may be considered a potential therapeutic agent in cancer treatment due to its anticancer properties. However, to fully understand its molecular mechanisms of action on tumor cells, further comprehensive in vitro and in vivo studies are required.

August 2025, 77 Pages

Keywords: Astaxanthin, MMP2, MMP9, NF κ B, Cancer

1. GİRİŞ

Kanser dünyadaki insan ölümlerinin başlıca nedenlerinden biridir. Meme kanseri heterojen bir hastalık olarak tanımlanmaktadır ve luminal A, luminal B, HER-2 (İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2) pozitif ve bazal benzeri meme kanseri olmak üzere dört moleküler alt tipi belirlenmiştir (1). Bunların arasında, luminal-tip, meme kanserinin çoğunu oluşturmakta olup, hormon tedavisinde etkili bir şekilde hedeflenebilen östrojen veya progesteron reseptörlerinin tipik ifadesi ile karakterize edilmektedir. Ancak bazı hastalar, hormon tedavisine karşı direnç ya da kazanılmış bir tolerans gösterirler (2). Luminal A (HR+/HER2-) yavaş büyüyen ve diğerlerine göre daha az saldırgan olan bir alt tiptir (3,4). HER2 ile zenginleştirilmiş kanserler, diğer alt tiplerden daha saldırgan bir şekilde büyüme ve yayılma eğilimlidir ve HR+ meme kanserlerine kıyasla daha zayıf kısa dönem prognoz ile ilişkilidir. Bununla birlikte, HER2+ kanserleri için hedefli tedavilerin yaygın olarak kullanılması bu hastalar için sonuçları iyileştirmiştir (4).

Serviks kanseri, kadınlar arasında en yaygın dördüncü kanser çeşididir (5). Kanserın erken tespiti ve tedavisi ile kanserin, ilerlemesi önlenabilir (6). Dünyada her yıl 500.000'den fazla yeni serviks kanseri vakası tespit edilmektedir. Serviks kanserinin gelişimini etkileyen faktörler HPV virüsü, çok eşlilik, fazla doğum sayısı, cinsel yolla bulaşan enfeksiyon öyküsü, erken yaşta cinsel ilişkiye başlama ve sigara kullanımı yer almaktadır (7).

Yıllar boyunca cerrahi, kemoterapi, radyoterapi ve moleküler hedef tedavisi gibi geleneksel yöntemler meme ve serviks kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Ancak bu tedavilerin etkinliği çeşitli sebeplerden dolayı hala sınırlıdır (5,8). Bundan dolayı meme ve serviks kanserlerine karşı yeni biyobelirteçlerin ve terapötik hedeflerin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Doğal ürünlerin kullanımı toplumda giderek yaygınlaşmaktadır. İlaçların birçoğunun etken maddesi doğal bileşiklerden türetilmektedir. FDA tarafından onaylanan bazı klinik öncesi ve klinik çalışmalarda (faz I'den III'e kadar) doğal ürün ve onların türevleri kullanılmaktadır. Bu doğal ürünler esas olarak bitkilerden (%47), bakterilerden (%30) ve mantarlardan (%23) türetilmektedir (9).

Astaksantin (3,3'-dihidroksi- β , β '-karoten-4,4'-dion) ilk kez istakozlarda 1938'de keşfedilmiştir ve güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olduğu için de 1991 yılında gıda

takviyesi olarak onay almıştır (10). Polar-nonpolar-polar düzenlenmesi, astaksantin hücre zarına tam olarak oturmasını sağlar (11,12). Ayrıca, astaksantin yapısında yer alan hidroksil (OH) ve karbonil (C = O) grupları moleküle daha polar, esterlenebilir ve yüksek oranda antioksidan özellik katar (13). Yüksek inflamasyon düzeylerinin, artan oksidatif stresin, yaşlanmanın ve mitokondriyal disfonksiyonun kronik dejeneratif hastalıklardan sorumlu olduğu genel olarak kabul edilmektedir (14,15). Oksidatif stres, DNA mutasyonlarına ve protein anormalliklerine neden olmaktadır ve bu anormalliklerin yarattığı hücresel hasar nedeniyle karsinogenez ile sıkı bir şekilde bağlantılıdır (16). Son yıllarda güçlü antioksidan etkiye sahip olması nedeniyle astaksantin, değerli bir terapötik aday olarak büyük önem kazanmıştır.

Buradan hareketle bu tez çalışmasında MDA-MB-231 meme kanseri ve HeLa serviks kanseri hücre hatlarına belirlenen uygun doz ve sürede astaksantin uygulandıktan sonra bu maddenin hücre canlılığı ve proliferasyonu, yara iyileştirmesi (wound healing), invazyon hareketleri üzerine etkileri ile invazyon sürecinde görev alan MMP2, MMP9 ve NFkB genlerinin RNA ve protein ifadenme düzeylerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kanser

Kanser, küresel çapta ciddi sağlık sorunlarından biri olarak ön plana çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) raporlarına göre, ölümlerin %13'ü kanserden kaynaklanmaktadır (17). 2020 yılı verilerine göre, yaklaşık 10 milyon ölüm yani her altı ölümden biri kanser nedeniyle gerçekleşmiştir. En yaygın görülen kanser türleri arasında meme, akciğer, kolon ve rektum kanserleri ile prostat kanseri bulunmaktadır (17). Ülkeler arasında farklılıklar göstermekle birlikte, rahim ağzı kanseri 23 ülkede en sık rastlanan kanser türü olmuştur. Son beş yıl içinde ise meme kanseri kadınlar arasında en yaygın kanser türü haline gelmiştir. Kanser nedeniyle meydana gelen ölümler, özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde daha yaygın olarak görülmektedir. Tütün ve alkol kullanımı, dengesiz beslenme, yaşlanma, fiziksel aktivite eksikliği, çevresel hava kirliliği ile bazı kronik enfeksiyonlar, kanserin gelişiminde temel risk faktörleri arasında yer almaktadır (17).

Kanser, genetik altyapıya dayanan ve hücresel DNA'daki bilginin bozulması sonucunda ortaya çıkan bir hastalıktır. Yaygın kanser türlerinin gelişiminde ağırlıklı olarak somatik hücrelerde meydana gelen edinilmiş mutasyonlar etkili olurken, bazı özgül germ hattı mutasyonları ise nadir görülen kalıtsal kanser sendromlarının temelini oluşturmaktadır. (18). Kanser, gen ekspresyonunda anormal paternlerin ortaya çıkmasına neden olur. Bunun sonucunda, hücresel proliferasyon, hayatta kalma, invazyon ve motilite gibi temel biyolojik işlevleri düzenleyen genlerin aktivitesi artarken, bu süreçleri baskılayan genlerin işlevleri azalır ya da kaybolur. Genetik değişimin temelinde mutasyonların birikimi yer almakla birlikte, mutasyonlara dayanmayan epigenetik modifikasyonların kanser gelişimi sürecinde merkezi bir rol oynadığı giderek daha fazla kabul görmektedir (19,20).

Tümör baskılayıcı genler (TSG'ler), hücre çoğalmasını ve hücrenin hayatta kalmasını denetleyen genlerdir. Genellikle hücre döngüsünün düzenlenmesinde ve programlı hücre ölümü (apoptoz) gibi süreçlerin kontrol edilmesinde önemli görev üstlenmektedirler (21). Onkogenler, hücre çoğalması, hayatta kalma ve invazyon/hareketliliği kontrol eden normal

hücresel proto-onkogenlerin mutasyona uğramış versiyonlarıdır. Proto-onkogenlerin ifadesi sağlıklı hücrelerde sıkı bir şekilde kontrol edilir ve bu sayede kontrolsüz hücre çoğalması önlenmiş olur. Fakat kanser gelişiminde, bu genlerde meydana gelen mutasyonlar hücrelerin kontrolsüz şekilde bölünmesine ve çevre dokulara yayılmasına yol açmaktadır (21).

2.1.1. Apoptoz

Apoptoz programlanmış hücre ölümüdür ve 1972’de Kerr ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (22,23). Apoptoz, embriyogenez ve erişkin doku homeostazisi gibi normal fizyolojik süreçlerde görev alan, hücre içinde sıkı şekilde düzenlenen programlı bir hücre ölüm mekanizmasıdır. Ayrıca, hücrede tümör baskılayıcı bir işlev de üstlenmektedir (24). Apoptoz, içsel (intrinsik) ve dışsal (ekstrinsik) olmak üzere iki farklı yol ile aktive edilmektedir. Her iki yol da sistein proteazlar olarak bilinen kaspazların aktivasyonunda birleşir (25). İçsel yol mitokondriyal dış zar geçirgenliği aracılığıyla başlatılırken, dışsal yol FasL ve TRAIL gibi ölüm indükleyici ligandlar tarafından Fas ve DR4/5 gibi ölüm reseptörlerinin ve hücre yüzeyinde kaspazların aktivasyonu ile başlamaktadır (24).

Apoptoz süreci, kaspazlar tarafından yürütülmektedir. Başlatıcı kaspazlar içsel yolda kaspaz-9, dışsal yolda ise kaspaz-8 ve kaspaz-10’dur. Başlatıcı kaspazlar efektör kaspazlar olan kaspaz-3, -6 ve -7’ yi aktive etmektedir. Bu kaspazlar aktif hale geldiklerinde, hücre içinde birçok proteini parçalayarak hücrenin apoptotik cisimciklere ayrılmasına ve nihai hücre ölümüne neden olmaktadır (26,27).

Apoptoz mekanizmasındaki bozulmalar, tümör hücrelerinin kontrolsüz çoğalmasına olanak tanıyarak kanser patogeneze katkıda bulunmaktadır. Kanser hücreleri apoptoza direnç özelliği kazanmaktadır ve bu direnç kanser hücrelerinin hayatta kalmasını ve tümör büyümesini teşvik etmektedir (28).

2.1.2. İnvazyon ve Metastaz

Metastaz, tümörün birincil (primer) bölgeden uzak bir organa yayılarak ikincil tümörlerin oluşumuna yol açan bir süreçtir (29). Metastatik süreç, invazyon-metastaz kaskadı olarak tanımlanan, birbirine bağlı ve karmaşık bir dizi biyolojik olayla karakterize edilmektedir (30). Bu süreç epitelyal polaritenin yitilmesi, doku yapısının bozulması, bazal membrana invazyon, hücrelerin damar sistemine girmesi (intravazasyon) ve damar sisteminden hedef dokulara çıkışı (ekstravazasyon), bu yeni dokulara yerleşerek buralar da metastatik kolonilerin çoğalarak büyümesi gibi aşamalardan oluşmaktadır (20).

Metastazın, kanserle ilişkili ölümlerin %90'ından fazlasında rol oynadığı belirlenmiştir (31). Metastazın en sık görüldüğü organlar beyin, akciğerler, karaciğer ve kemiklerdir ve farklı kanser türleri, belirli organ veya dokulara metastaz yapma açısından kendine özgü paternler sergilemektedir (32). Dünya genelinde her yıl 19 milyondan fazla yeni kanser vakasının tespit edildiği ve bu vakaların %60'ından fazlasında metastaz geliştiği belirtilmektedir (33,34).

Metastatik sürecin başlangıcını oluşturan invazyon, tümör hücrelerinin diğer hücrelerle ve ekstraselüler matriksle (ECM) olan etkileşimlerinde değişikliklerin meydana gelmesi, çevre dokuların enzimatik yıkımı ve hücrelerin aktif hareket etme yetisi kazanmasıyla karakterize bir durumdur (35). Tümör hücreleri invazyon sürecinde kolektif (toplu) ya da tekil (bireysel) olarak hareket edebilirler. İnvazyon tipi, hücrelerdeki moleküler değişimlere ve tümör mikroçevresinin özelliklerine bağlı olarak şekillenmektedir (36). Hücrelerin invaziv veya metastatik bir fenotip kazanması durumunda, bu süreçte işlev gören çeşitli protein sınıfları bulunmaktadır. Bu proteinler arasında; immünoglobulin süper ailesi, kalsiyum bağımlı kadherin ailesi üyeleri ve integrinler gibi hücre-hücre adezyon molekülleri (CAM) yer almaktadır (37). İntegrinler ve diğer adezyon moleküllerinin aktive olmasıyla birlikte, invazyonun gerçekleşebilmesi için ECM'i parçalayan proteazların da aktivasyonu tetiklenmektedir (38). Tümör hücrelerinin çevre dokulara invazyonunun başlayabilmesi için ilk olarak ECM'nin kanser hücreleri tarafından proteolitik yollarla yeniden şekillendirilmesi gerekmektedir. Matriks metalloproteinazlar, ECM'i parçalayan ve bu süreçte yer alan başlıca proteazlardır (39).

2.2. Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinazlar (MMP) bazal membran (BM) ve ECM'nin tüm bileşenlerini parçalayabilme özelliğine sahip, çinko bağımlı endopeptidazlardır ve astasinler, meprinler, disintegrin ve metalloproteinazlar (ADAM) ile birlikte metzincin süper ailesine aittirler (40).

Bu enzimler normal fizyolojik koşullarda, inflamasyon, doku onarımı ve organ gelişimi gibi süreçlerde görev almaktadır. Buna karşın, kanser hücreleri tarafından hem lokal doku invazyonunu hem de metastatik yayılımı sağlamak için ECM'de değişiklik yapmak amacıyla kullanılmaktadırlar (41).

Omurgalılarda toplam 28 MMP tanımlanmış olup, bunlardan 24 tanesi insanlarda bulunmaktadır. MMP-23, farklı lokuslardan köken alan MMP-23A ve MMP-23B olmak

üzere iki izoform şeklinde ifade edilmektedir (42,43). Dizi homolojisi, domain yapısı ve substrat spesifikliğine göre MMP'ler sekiz sınıfa ayrılmaktadır. Bu sınıflar: (1) kollajenazlar, (2) jelatinazlar, (3) stromelizinler, (4) matrilizinler, (5) membran tip I, (6) membran tip II, (7) glikozilfosfatidilinozitol (GPI)-çapalı MMP'ler ve (8) diğer MMP'ler olarak adlandırılmaktadır. (40,44).

MMP'ler, zimojenler olarak sentezlenmektedir. Bazı MMP'ler, başka MMP'lerin aktivasyonunu tetikleyebilir ya da kısmi aktivasyon sonrası oto-katalitik yollarla kendi pro-peptid bölgelerini keserek aktif formlarına dönüşebilirler. MMP-14 ve diğer membrana bağlı MMP'ler, pro-peptid kısımlarında furin kesim dizisi içerdikleri için hücre içi serin proteinazlar tarafından aktive edilmektedir (45).

MMP'lerin aktivitesi, MMP doku inhibitörleri (TIMP'ler) adı verilen endojen proteinlerle inhibe edilmektedir. Dört üyeden oluşan TIMP ailesi (TIMP-1-TIMP-4) her biri 184 ila 194 amino asit içeren ve yaklaşık 21 kDa moleküler ağırlığa sahip proteinlerden oluşmaktadır. TIMP-3 haricindeki diğer TIMP üyeleri, ekstraselüler matrikste çözünür halde bulunurken, TIMP-3 ECM'ye bağlanmış şekilde bulunmaktadır (46).

MMP genlerinin ekspresyonu, hücre-hücre ve hücre-matris etkileşimleri ile birlikte, NFkB, MAPK ve JAK/STAT gibi sinyal iletim yolları aracılığıyla ve ayrıca çeşitli moleküller (örneğin; büyüme faktörleri, glukokortikoidler, sitokinler, retinoik asit ve eikosanoidler) yoluyla sıkı şekilde düzenlenmektedir (47,48).

MMP mRNA'sının aşırı ifadelenmesi ya da TIMP'lerin MMP'leri yeterince inhibe edememesi sonucunda ECM'nin aşırı yıkımı, tümör oluşumuna ve diğer patolojik durumların gelişimine neden olmaktadır (49).

Çeşitli kanser türlerinde MMP'lerin mRNA ve protein ekspresyonlarının değiştiği bilinmektedir. Örneğin; prostat ve akciğer kanserlerinde MMP9'un yüksek düzeyde ifade edildiği gösterilmiştir (50). Benzer şekilde üçlü negatif ve HER2 pozitif meme kanseri hücrelerinde MMP9 ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (51). Başka bir çalışma da ise MMP2 ekspresyonunun mide kanserinde yukarı regüle olduğu tespit edilmiştir (52).

2.3. Matriks Metalloproteinaz-2 (MMP2)

Matriks metalloproteinaz-2 (MMP2), ECM'nin yeniden şekillenmesinde önemli rol oynayan bir MMP ailesi üyesidir. Tip IV kollajenaz veya jelatinaz A (EC 3.4.24.24) olarak da bilinen

MMP2, özellikle bazal membran ve bağ dokusunun bileşenlerini parçalayarak doku yeniden yapılanması, anjiyogenez, yara iyileşmesi ve tümör invazyonu gibi süreçlerde görev almaktadır (53, 54).

MMP2 proteini 72 kDa büyüklüğünde ve bir pro-domain, bir katalitik domain, üç fibronektin tip II domaini ve bir hemopeksin benzeri domain içermektedir (Şekil 2.1) (55) . MMP2'yi diğer MMP'lerden ayıran özelliklerinden biri, katalitik bölgesinde, fibronektindeki tip II tekrarlar gibi kollajen bağlayıcı özellik taşıyan sisteinden zengin eklentilerin yer almasıdır (56). MMP2 jelatin, tip I, IV ve V kollajenlerin yanı sıra fibronektin, laminin, elastin ve vitronektin gibi proteinleri de yıkıma uğratabilir (57,58).

MMP2, inaktif bir proenzim (proMMP2) olarak sentezlenmektedir ve proteolitik işlevini yerine getirebilmesi için aktive edilmesi gerekmektedir. proMMP2 genellikle MMP14 (MT1-MMP) ya da plazmin gibi enzimlerin, pro-peptid bölgesini proteolitik olarak kesmesiyle aktif form olan MMP2 'ye dönüşür ve ECM bileşenlerini parçalayabilir (59,60). TIMP'ler, özellikle de TIMP-2, MMP2'nin enzimatik aktivitesini sıkı bir şekilde düzenlemektedir (61).

Normal fizyolojik koşullarda MMP2 doku onarımı ve yeniden düzenlemesi, hücreler farklılaşma ve embriyogenez gibi süreçlerde görev almaktadır (62,63,64). Ayrıca tümör gelişimi ve ilerlemesi süreçlerinde rol oynayan hücre hareketliliği, anjiyogenez, hücre çoğalması migrasyon ve apoptoz gibi süreçlere de katkı sunmaktadır (62,65).



Şekil 2.1: MMP2'in yapısı (158).

2.4. Matriks Metalloproteinaz-9 (MMP9)

İlk kez 1974'te nötrofillerde varlığı saptanan matriks metalloproteinaz-9 (MMP9), matriks metalloproteinaz ailesinin önemli üyelerinden biridir (66). MMP-9 (EC 3.4.24.35), 92 kDa moleküler ağırlığa sahip, jelatinaz B veya tip IV kollajenaz olarak da bilinen, çinko bağımlı bir matriks metalloproteinazdır (Şekil 2.2) (67).

İnsan MMP9 geni 20q13.12 kromozomunda bulunmaktadır ve 13 ekson, 12 intron içermektedir (68,69). MMP9, multidomain içeren bir proteindir ve yapısında bir sinyal peptidi, propeptid, bir katalitik domain, hemopeksin benzeri domain ve hinge bölgesi bulunmaktadır (68,69). Propeptid bölgesi enzimin inaktif formda tutulmasını sağlamaktadır. Katalitik domain Zn^{2+} bağımlı proteolitik aktivite göstermektedir. Hemopeksin domaini ise hücre yüzey reseptörleri ile etkileşimi ve spesifik substrat bağlanmasını düzenlemektedir (67,70).

MMP9, ECM'in dinamik düzenlenmesinde görev alan bir MMP ailesi üyesidir ve tip IV, V, VII, X ve XIV kollajenleri, fibronektini ve laminini yıkıma uğratmaktadır (71). Aynı zamanda, hücre dışı sinyal iletim moleküllerinin salınımı ve aktivasyonunda da rol oynamaktadır (67). MMP9, bir zimojen olarak sentezlenmektedir ve bu zimojen form monomer olarak ya da disülfid bağı içeren homodimer olarak başlıca iki formda

bulunmaktadır (67). MMP9, tripsin, plazmin, katepsin G veya K, kallikrein ve diğer metalloproteinazlar gibi çeşitli proteazlar tarafından ya da oksidatif strese yanıt olarak aktif formuna dönüştürülmektedir (72,73,74). MMP9, TIMP-1 tarafından inhibe edilmektedir (75).

Normal fizyolojik koşullarda MMP9, özellikle bazal membran ve bağ dokusu bileşenlerini parçalayarak üreme, büyüme ve gelişme gibi süreçlerde önemli rol oynamaktadır (76,77). Patolojik koşullarda ise, endotel hücrelerinin migrasyonunu teşvik ederek, anjiyogenezi artırarak tümör progresyonunu desteklemektedir (78,79). MMP9, tümör mikro çevresinde bazal membranı ve stromayı parçalayarak tümör hücrelerinin çevre dokulara yayılmasını kolaylaştırmaktadır (80).



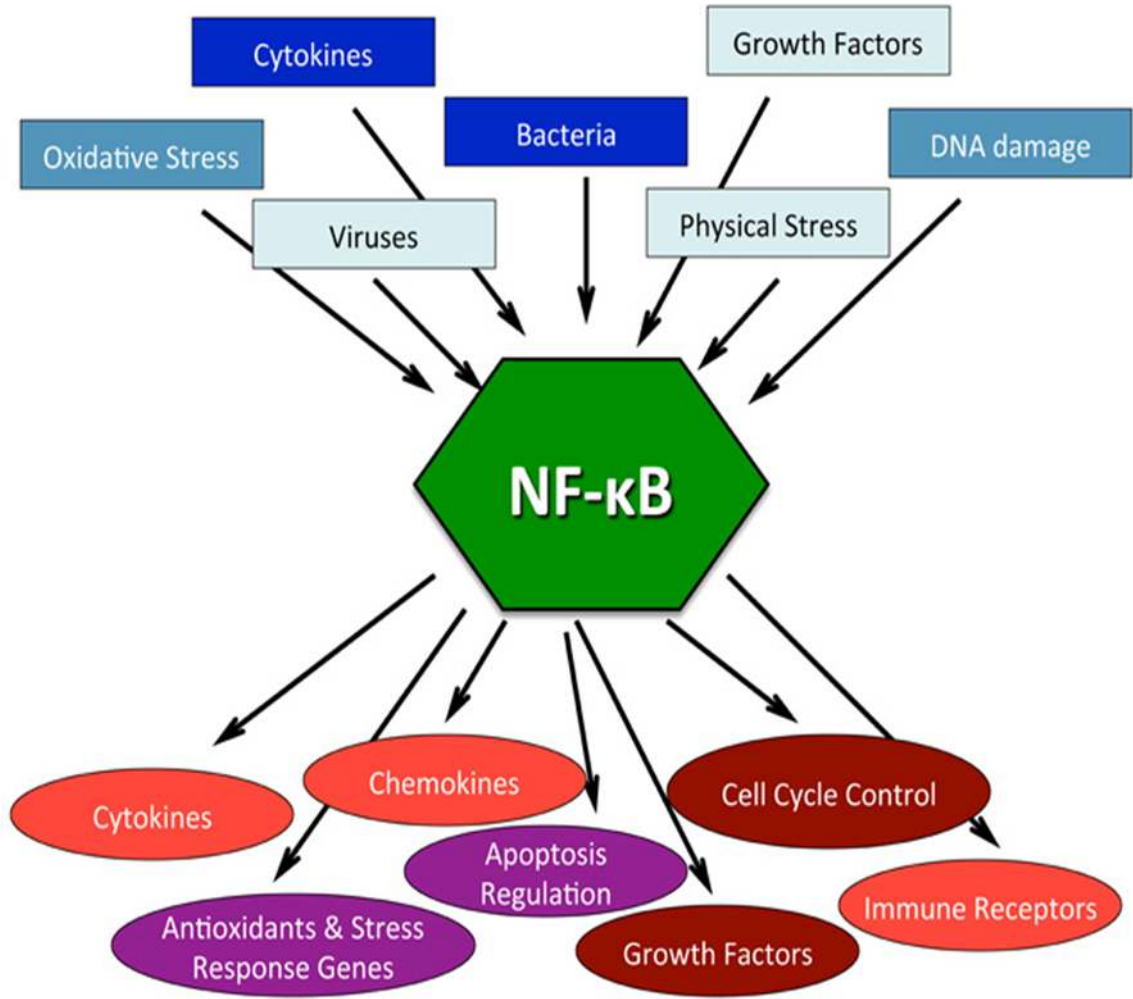
Şekil 2.2: MMP9 yapısı (159).

2.5. Nükleer Faktörü Kappa-B (NFkB)

Nükleer faktörü kappa-B (NFkB) ailesi, RelA (p65), RelB, c-Rel, p50 (NFkB1) ve p52 (NFkB2) beş farklı proteinden oluşmaktadır (81). Bu proteinler, homodimer veya heterodimer kompleksler oluşturarak DNA'ya bağlanır ve gen ekspresyonunu

düzenlemektedir (82). NfκB yolu iki genel mekanizma yolu ile aktivasyona uğramaktadır. Bu yollar, kanonik (canonical) ve kanonik olmayan (non-canonical ya da alternatif) yollar olarak bilinmektedir (83). NFκB; inflamasyon, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması, hücre yapışması ve apoptoz gibi süreçlerde görev alan pek çok genin ifadenmesini kontrol etmektedir (Şekil 2.3) (84).

NFκB, genellikle sitoplazmada IκB (inhibitör kappa B) proteinleri tarafından inhibe edilmektedir (81,85). Hücre dışı sinyaller (örneğin, sitokinler, patojenler veya stres faktörleri) NFκB sinyal yolunu aktive ettiğinde, IκB kinaz (IKK) kompleksi tarafından IκB proteinleri fosforile edilerek yıkıma uğramaktadır (86,87). Serbest kalan NFκB, nükleusa taşınarak hedef genlerin ekspresyonunu artırmaktadır ve bunun sonucunda inflamasyon ya da bağışıklık yanıtı, hücre hayatta kalma yanıtı veya hücre proliferasyonu gibi durumlar ortaya çıkmaktadır (88). Kanserde NFκB, gen ifadesinin bozulduğu bilinmektedir. Kanseri gelişimi ve ilerlemesinde rol oynayan apoptoz, anjiyogenez, metastaz ve hücre döngüsü gibi süreçlerde bozulmuş NFκB aktivitesi gözlenmektedir (89).



Şekil 2.3: NF-κB transkripsiyon faktörlerinin Aktivasyonu (90).

2.6. Meme Kanseri

Epidemiyolojik veriler, son yıllarda meme kanserinin kadınlar arasında en sık görülen kanser olduğunu göstermektedir. 2020’de yaklaşık olarak 2,3 milyon yeni meme kanseri vakası bildirilmiş olup, bu sayı tüm yeni kanser vakalarının %11,7’sini oluşturmaktadır. Aynı yıl içinde 684.996 kişi meme kanseri nedeniyle hayatını kaybetmiştir (17). Meme kanseri Türkiye’deki kadınlar arasında da en sık görülen ve en fazla ölüme neden olan kanser türüdür ve insidansı 100.000 kadında 47 olarak bildirilmektedir (91). Dünya genelinde, kadınlarda meme kanserine bağlı ölüm oranları, gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere oranla daha yüksek seyretmektedir (17). Erkeklerde görülen meme kanseri vakaları ise tüm meme kanseri vakalarının sadece %1’ini oluşturmaktadır (92).

Meme kanserinin başlıca risk faktörleri arasında, erken menarş, geç menopoiz, ileri yaşta ilk doğum, emzirme süresinin kısa olması, menopozal hormon tedavisi gibi üreme ve hormonal

faktörler, obezite, hareketsizlik, alkol gibi yaşam tarzı alışkanlıkları ile BRCA1/2 başta olmak üzere kalıtsal gen mutasyonları yer almaktadır (93,94).

2.6.1. Meme Kanseri Evrelemesi ve Sınıflandırılması

Meme kanseri evrelemesi; tümörün boyutu, lenf nodlarına yayılım durumu, uzak organ metastazı varlığı ve östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörleri (PR) ile HER2 (İnsan epidermal büyüme faktör reseptörü 2) gibi moleküler biyobelirteçlerin varlığına dayanarak yapılmaktadır (95).

- Evre 0, Duktal karsinoma in situ (DCIS), invaziv olmayan meme kanseri olarak tanımlanmaktadır.
- Evre I, IIa ve IIb, erken evre invaziv meme kanserlerini temsil etmektedir.
- Evre IIIa, IIIb ve IIIc, lokal ileri evre yani tümörün lokal olarak ilerlediği ancak uzak organlara metastaz yapmadığını belirtmektedir.
- Evre 0–III genel olarak metastatik olmayan meme kanserlerini ifade etmektedir.
- Evre IV ise metastatik meme kanseri evresidir ve tümör hücrelerinin uzak organlara metastaz yaptığını göstermektedir. (96).

Meme kanseri, heterojen bir hastalıktır ve bu nedenle, prognozun öngörülmesi ve uygun tedavi stratejisinin belirlenebilmesi için ER, PR, HER2 ve Ki67 gibi gen ekspresyon profillerinin durumuna göre alt tiplere ayrılmaktadır (97,98).

Meme kanseri, gen ekspresyonu profillemesine göre başlıca dört moleküler alt tipe ayrılmaktadır. Bunlar:

- Luminal A: ER ve/veya PR pozitifliği, HER2 negatifliği göstermektedir. Düşük Ki-67 proliferasyon indeksine sahiptir. En yaygın olan ve en iyi prognoza sahip alt tip olarak kabul edilmektedir.
- Luminal B: ER pozitif, PR düşük ya da negatif olabilir. Ki-67 indeksi luminal A'ya göre daha yüksektir. HER2 pozitif veya negatif olabilir ve prognozu luminal A'dan daha kötüdür.
- HER2 zengin: HER2 pozitif, ER ve PR negatiftir ve agresif bir seyir göstermektedir.
- Üçlü negatif (Triple negative): ER, PR ve HER2 negatiftir. Bu alt tip en agresif alt tiplerden biridir ve genellikle genç kadınlarda daha sık görülür. Bazı üçlü negatif tümörler, bazal benzeri moleküler alt tipe aittir. (99).

Meme kanserinin tedavisi, cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi, hormon tedavisi, akıllı ilaç ile hedefli terapi ve immünoterapi yöntemlerini içermektedir (96).

2.7. Rahim Ağzı (Serviks) Kanseri

Serviks kanseri kadınlar arasında dünya genelinde en sık görülen dördüncü kanser olup, 2020 yılında 604.000 yeni serviks kanseri vakası ve 342.000 ölüm bildirilmiştir (17,100). Dünya genelinde serviks kanseri nedeniyle yaşanan ölümlerin yaklaşık %85'i az gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir (101).

Servikal kanserle ilişkili birçok risk faktörü bulunmaktadır. Bu risk faktörlerinin içinde en önemlisi, olguların yaklaşık %99,7'sinden sorumlu tutulan insan papilloma virüsü (HPV) enfeksiyonudur. Ayrıca, sigara kullanımı, immün sistemin baskılanması, birden fazla cinsel partner, erken yaşta cinsel ilişki ve tarama programlarına katılımın düşük olması gibi faktörler de hastalığın gelişiminde rol alan unsurlardır. (17,102,103).

Serviks kanserinin dünya genelinde daha yaygın aşılama ve etkili tarama stratejileri yoluyla ortadan kaldırılmasını hedefleyen “Servikal Kanseri Ortadan Kaldırma Girişimi” (Cervical Cancer Elimination Initiative) Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından, Mayıs 2018’de başlatılmıştır (104).

2.7.1. İnsan Papilloma Virüsü (HPV)

İnsan papilloma virüsü (HPV) *Papillomaviridae* ailesine ait olup, küçük, zarfsız, çift sarmallı DNA virüsüdür (105). HPV genomu sekiz kilobaz uzunluğundadır ve genellikle sekiz protein kodlamaktadır (106). HPV, cinsel yolla bulaşmaktadır ve yıllar içerisinde serviks kanseri oluşumuna yol açabilmektedir (107,108).

Tüm HPV tipleri onkojenik özelliğe sahip değildir. Serviks kanseri olan kadınlarda en yaygın olarak tespit edilen HPV alt tipleri sırasıyla 16, 18, 45, 31, 33, 52, 58 ve 35’tir. HPV’nin yüksek onkojenik potansiyele sahip alt tipleri olan 16 ve 18’in, serviks kanseri vakalarının yaklaşık %70’inden sorumlu olduğu bildirilmektedir (109). HPV’den başlıca korunma yöntemleri aşılama ve toplum temelli tarama programlarıdır (110).

2.7.2. Serviks Kanseri Evrelemesi ve Sınıflandırılması

Dünya genelinde serviks kanserinin evrelemesinde kullanılan sistem, Uluslararası Jinekoloji ve Obstetrik Federasyonu (FIGO) tarafından belirlenmiştir (111). Evreleme, tümör boyutu ve pelvik yayılım derecesine göre belirlenmekte olup, fizik muayene, endoskopik ve görüntüleme yöntemlerinin birlikte kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir (Tablo 2.1) (112,113).

Tablo 2.1: Serviks Kanseri Evreleri (FIGO 2018) (114).

Evre	Açıklama
I	Tümör yalnızca serviksle sınırlıdır
IA	Mikroskopik olarak tanı konulabilen invaziv karsinom
IA1	Stromal invazyon derinliği ≤ 3 mm
IA2	Stromal invazyon derinliği > 3 mm ve ≤ 5 mm
IB	En derin invazyonu > 5 mm olan invaziv karsinom (IA evresinden daha ileri); lezyon serviks ile sınırlıdır
IB1	En büyük boyutu ≤ 2 cm olan invaziv karsinom
IB2	En büyük boyutu > 2 cm ve ≤ 4 cm olan invaziv karsinom
IB3	En büyük boyutu > 4 cm olan invaziv karsinom
II	Servikal karsinom uterus dışına yayılmıştır ancak vajinanın ya da pelvik duvara ulaşmamıştır.
IIA	Parametriuma invazyon yok, vajinanın üst 2/3'ü ile sınırlı tutulum.
IIA1	En büyük boyutu ≤ 4 cm olan invaziv karsinom
IIA2	En büyük boyutu > 4 cm olan invaziv karsinom
IIB	Parametrium invazyonu vardır ancak pelvik duvara ulaşmamıştır.
III	Vajinanın alt üçte birlik kısmını ve/veya pelvik duvarı tutan ve/veya hidronefroz veya fonksiyon görmeyen böbreğe neden olan ve/veya pelvik ve/veya paraaortik lenf nodlarını tutan karsinom
IIIA	Vajinanın alt üçte birlik kısmını tutar, ancak pelvik duvara uzanmaz
IIIB	Pelvik duvara uzanma ve/veya hidronefroz veya fonksiyon görmeyen böbrek
IIIC	Pelvik ve/veya paraaortik lenf nodu tutulumu vardır (mikrometastaz dâhil), tümör boyutu ve yayılımı fark etmeksizin (r ve p notasyonları ile birlikte).
IIIC1	Sadece pelvik lenf nodu metastazı
IIIC2	Paraaortik lenf nodu metastazı
IV	Karsinom pelvisin ötesine yayılmış veya mesane ya da rektum mukozasında (biyopsi ile kanıtlanmış) tutulum vardır. Sadece büllöz ödem, Evre IV tanısı için yeterli değildir.
IVA	Komşu organlara (mesane, rektum) yayılım
IVB	Uzak organlara yayılım

Histopatolojik açıdan serviks kanseri; skuamöz hücreli karsinom, adenokarsinom, berrak hücreli adenokarsinom, seröz karsinom, adenoskuamöz karsinom, camı hücreli karsinom,

adenoid kistik karsinom, adenoid bazal karsinom, küçük hücreli karsinom veya farklılaşmamış karsinom olarak sınıflandırılabilir (115). Skuamöz hücreli karsinom ve adenokarsinom yaklaşık %70 ve %25 oranında serviks kanserinin en sık rastlanan alt tipleridir (116,117).

Serviks kanserinin tedavi yöntemleri arasında cerrahi müdahale, radyoterapi, kemoterapi hedefe yönelik tedavi ve immünoterapi, palyatif tedavi ve destekleyici bakım yer almaktadır (102,118).

2.8. Astaksantin

19. yüzyılın başlarında karotenoidlerin ilk keşfinden sonra astaksantin üzerine çalışmalar başlamıştır. Bu pigmentler ilk kez paprika, safran, havuçta tespit edilmiştir (119,120). 1900'li yıllarda Karrer ve Kuhn, β -karoten de dahil olduğu sekiz karotenoidin yapısını belirlediler ve bu başarılarıyla Nobel Kimya Ödülü'nü kazanmışlardır (119,120).

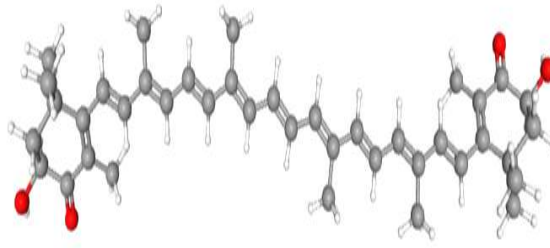
Astaksantin (3,3'-dihidroksi- β , β -karoten-4,4'-dion; AXT), bir karotenoiddir ve ilk kez 1938 yılında istakozlarda keşfedilmiştir (121). AXT, karotenoidlerin iki ana grubundan biri olan ksantofiller grubuna dahildir. Kimyasal formülü $C_{40}H_{52}O_4$, moleküler kütlesi 596.85 Da, yoğunluğu ise 1.081 g/L'dir. (121). AXT molekül yapısında bulunan iki kiral karbon atomu (R veya S konformasyonları) nedeniyle, AXT üç optik izomer şeklinde var olabilir: 3S, 3'S; 3R, 3'S ve 3R, 3'R (Şekil 2.4) (122).

AXT, yengeç, karides gibi kabuklu deniz hayvanlarında ve mikroorganizmalarda yaygın olarak bulunmaktadır (10,123). AXT, algler, mantarlar, yüksek bitkiler, bakteriler tarafından de novo olarak sentezlenmektedir (124).

Bu organizmalarda AXT'nin sentezi, beş karbonlu öncül maddeler olan dimetilalil pirofosfat (DMAPP) ve izopentenil difosfat (IPP)'ten yapılmaktadır. Bu öncüller, sırasıyla sitoplazmada gerçekleşen mevalonat (MVA) yolu ve kloroplastta gerçekleşen metileritritol fosfat (MEP) yolu aracılığıyla sentezlenmektedir (125).

AXT yapısında iki uçta β -ionon halkaları bulunur ve bu halkalar, konjuge çift bağlarla bağlı dört izopren birimi ile birbirine bağlanmıştır (Şekil 2.4) (126). Ayrıca moleküler yapısında iki hidroksil ($-OH$) ve iki karbonil ($C=O$) grubu bulunmaktadır. AXT yapısında bulunan, 13 konjuge çift bağ nedeniyle turuncudan koyu kırmızıya kadar değişen bir renge sahiptir ve kristal formu ise parlak siyah-mor renge sahiptir (127). Organizmada AXT sadece bir

renklendirici olarak değil, aynı zamanda β -karoten ve α -tokoferol'den daha üstün olan bir antioksidan olarak da görev yapar (128). AXT'nin antioksidan aktivitesi, β -karotenden 10 kat, E vitamininden ise 100 kat daha yüksektir (129,130). Güçlü bir antioksidan özellik taşıyan AXT, 1991 yılında gıda takviyesi olarak onay almıştır (10).



Şekil 2.4: AXT'in 3D yapısı (160).

Yapısında bulunan konjuge çift bağ sistemi sayesinde, AXT elektron vererek reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize edebilir ve bu özelliği sayesinde, AXT birçok canlıda zararlı reaktif oksijen türlerinin organizmaya vereceği zararı önler (131).

AXT'nin kanser, nörodejeneratif hastalıklar, ateroskleroz ve tip 2 diyabet gibi hastalıklara karşı etkili bir ajan olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (132-137). AXT'nin, kan-beyin ve kan-retina bariyerini kolaylıkla geçebildiği ve bu organlardaki inflamasyonları önleyerek anti-inflamatuar (iltihap önleyici) etki gösterdiği tespit edilmiştir (138). Ayrıca, AXT'nin antioksidan özelliklere sahip olduğu ve UV kaynaklı foto-yaşlanmayı ve cilt kanserini önlediği belirtilmiştir (139). Aynı zamanda, AXT, singlet oksijeni ve diğer serbest radikalleri temizleme konusunda etkili olduğu için anti-kanser aktivite göstermektedir. (140). Bir çalışmada, AXT'nin, Nrf2/Keap1 yolunu aktive ederek ve NF-kB yolunu inhibe ederek oksidatif hasarı azalttığı belirtilmiştir (141)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hücre Hatları

Tez çalışmasında kullanılan MDA-MB-231 ve HeLa hücre hatları Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji laboratuvarından temin edilmiştir.

3.1.2. Kimyasal ve Reaktifler

Tablo 3.1: Çalışmada Kullanılan kimyasallar ve reaktifler.

Kullanım Amacı	Kimyasal ve Reaktifler	Ürün Firma Adı
Hücrelerin Geliştirilmesi	RPMI-1640 Medium Fetal Bovin Serum (FBS) Gentamisin Phosphate Buffered saline (PBS) Dimetil Sülfoksit (DMSO) Tripsin- EDTA	Biowest, Fransa Biowest, Fransa Biowest, Fransa Biowest, Fransa Biowest, Fransa Biowest, Fransa
RNA izolasyonu	RNA izolasyon kiti	GeneAll, Kore
cDNA sentezi	cDNA sentez kiti	WizScript, Kore
Gerçek zamanlı PCR ile gen ifadesinin belirlenmesi	Sybr Green master Mix MMP2, MMP9, NFkB, β -aktin Primerleri	Bio-Rad, ABD Oligomer, Türkiye
Western Blot Deneyi	Biçinkokronik asit (BCA) kiti TGX FastCast hazır Jel Kiti Running Buffer Transfer Buffer Yağsız süt tozu MMP2 primer antikor MMP9 primer antikor NFkB primer antikor Beta aktin primer antikor Gelişmiş kemilüminesans (ECL) substratları solüsyonu	Takara, Japonya Bio-Rad, ABD Bio-Rad, ABD Bio-Rad, ABD Bio-Rad, ABD Shanghai Coon Koon Biotech Co., Ltd; Çin MedChem, İsveç Elabscience, Çin Elabscience, Çin Bio-Rad, ABD
İnvazyon Deneyi	Giemsa Çözeltisi Metanol (%100) Formaldehit (%37)	Merck, Almanya Tekkim, Türkiye Tekkim, Türkiye
Hücrelere uygulanan madde	Astaksantin	MedChem, İsveç
Yara İyileşmesi (Migrasyon) Deneyi	Giemsa Blue Metanol Formaldehit	Merck, Almanya Merck, Almanya Merck, Almanya

3.1.3. Makine ve Teçhizat

Tablo 3.2: Çalışmada kullanılan makine ve teçhizat.

Kullanım Amacı	Makine ve Teçhizat	Ürün Firma Adı
Hücrelerin Geliştirilmesi	CO2 İnkübatör Laminar akımlı kabin İnverted mikroskop Mikroskop makinesi Stereo mikroskop	Nüve EC 160, Türkiye Nüve MN 090, Türkiye BAB, Türkiye Leica, Almanya Leica, Almanya
Moleküler Çalışma	Gerçek zamanlı PCR Yürütme Tankı Hızlı transfer sistemi Görüntüleme cihazı Vorteks Mini Santrifüj Cihazı Santrifüj Cihazı Hassas Terazî	Bio-Rad, ABD Bio-Rad, ABD Bio-Rad, ABD Bio-Rad, ABD IKA® Vortex, ABD Nüve NF 024, Türkiye Nüve NF 400, Türkiye KERN, Almanya
Malzeme Depolanması	Buzdolabı (+4 °C) Buzdolabı (-20 °C) Buzdolabı (-80 °C)	Siemens, Almanya Siemens, Almanya Nüve, Türkiye

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Hücre Kültürü

3.2.1.1. HeLa ve MDA-MB-231 Hücre Hatlarının Geliştirilmesi

Çalışmada HeLa ve MDA-MB-231 kanser hücre hatları, %10 Fetal Sığır Serumı ve %1 Gentamisin antibiyotiği içeren RPMI-1640 besiyerinde, 37 °C’de ve %5 karbondioksit inkübatörün de 25 cm²’lik flasklarda kültüre edildi (Şekil 3.1-Şekil 3.2) Flask yüzeyinin %80’i hücreler tarafından kaplandıkça, hücreler tripsin kullanılarak pasajlandı.



Şekil 3.1: MDA-MB-231 hücre hattı.



Şekil 3.2: HeLa hücre hattı.

3.2.1.2. Sitotoksosite Analizi

AXT'nin kanser hücrelerindeki sitotoksik etkisini belirlemek amacıyla XTT deneyi yapıldı. Kuyucuk başına 5000 hücre gelecek şekilde hücreler 96 kuyucuklu plakalara ekildi. Plakanın bir kolonu besi yeri kontrolü olarak ayrıldı ve buraya hücre ekilmedi. 24-48 saatlik inkübasyon sonunda astaksantin seri dilüsyonlar halinde kuyucuklara verildi ve 48 ila 72

saat sonra formazan boyası eklenmiş XTT kimyasalı her bir kuyucuğa eklenerek 2 ila 5 saat inkübatörde bekletildi. Daha sonra ELISA okuyucusu kullanılarak optik yoğunluklar hesaplandı. Okuma sonucunda yapılacak hesap ile astaksantin hücreler üzerindeki IC₅₀ dozu belirlendi.

3.2.1.3. RNA İzolasyonu, cDNA Sentezi ve Gerçek Zamanlı (real-time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Genlerin ifade düzeyinin belirlenmesi için AXT uygulamasını takiben hücre hatlarından RNA izole edildi. Hücrelerden RNA izolasyon kitinin (GeneAll, Kore) protokolüne uygun olarak RNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen RNA'ların miktarları ve saflığı ölçülerek cDNA sentezinde kullanıncaya kadar RNA'lar -80 °C'de saklandı. Gen ifadesinin gerçek zamanlı (real-time) polimeraz zincir reaksiyonu ile belirlenebilmesi için, öncelikle genin transkriptinin yani mesajcı RNA'sının tamamlayıcı DNA'ya (complementary DNA, cDNA) çevrilmesi gerekmektedir. cDNA sentez kiti (WizScript, Kore) ile kit protokolü takip edilerek RNA'dan cDNA sentezi yapıldı. Elde edilen cDNA'lar gerçek zamanlı (real-time) polimeraz zincir reaksiyonu yapıncaya kadar -20°C'de saklandı. cDNA sentezi gerçekleştirildikten sonra her gen için içerisinde cDNA, primerler, MgCl₂ ve Sybr Green master mix içeren PCR reaksiyon tüpü hazırlanarak uygun sıcaklık değerleri ve protokoller belirlenerek optimizasyon çalışmaları yapıldı (Tablo3.3). Optimizasyon çalışmaları tamamlandıktan sonra bu genlerin mRNA ifadelenme düzeyleri gerçek zamanlı (realtime) PCR ile belirlendi.

Tablo 3.3: Gerçek zamanlı PCR primer dizileri.

Gen	Forward	Reverse
MMP2	5'-AATCCACCAACCCTCAGAG-3'	5'-GTGCCCTCTTGAGACAGTCT-3'
MMP9	5'-GAGTTCCCGGAGTGAGTTGA-3'	5'-AAAGGTGAGAAGAGAGGGCC-3'
NFkB	5'-TACCCTCAGGTCAAAATCTGCAA-3'	5'-TTCCATTTGTGACCAACTGAACAA-3'
Beta Actin	5'-CACCAACTGGGACGACAT-3'	5'-ACAGCCTGGATAGCAACG-3'

3.2.1.4. Western Blot Deneyi

MMP2, MMP9 ve NFkB geninin protein ifadelenmelerinin gösterilmesi western blot yöntemi kullanılarak yapıldı. Referans gen olarak β -aktin çalışıldı. Toplanan hücrelerden RIPA lizis ve ekstraksiyon buffer kitinin protokolüne uygun olarak protein izolasyonu gerçekleştirildi. Biçinkokronik asit (BCA) yöntemi ile protein miktarları belirlenen örnekler eşit miktarda SDS-poliakrilamid jele yüklenerek 1X running buffer içerisinde yürütüldü. Moleküler ağırlıklarına göre ayrılan proteinler PVDF membrana transfer edildi. Daha sonra membran % 5'lik yağsız süt tozu içerisinde inkübe edildi ve 3 kez TBS-t solüsyonu ile yıkanarak proteine özgü primer antikorla gece boyu (overnight) muamele edildi. 3 kez TBS-T ile yıkanan membran sekonder antikor ile muamele edildikten sonra 3 kez TBS-T ile yıkandı ve protein bantları gelişmiş kemilüminesans (ECL) substratları solüsyonu eklenerek görüntülendi.

3.2.1.5. MDA-MB-231 ve HeLa Hücre Hatlarının Yara İyileştirme (Migrasyon) Deneyi

Bu deney, Rodriges vd., (2005) tarafından özetlenen yöntem kullanılarak yapıldı (142). 12 kuyucuktan oluşan plaka içerisine her bir kuyucuğa $1,5 \times 10^5$ hücre ekildi ve 37°C'de %5'lik CO₂ inkübatöründe 48 saat inkübe edildi. Bu süre sonunda hücrelerin yüzeyi kapladıkları belirlendi ve daha sonra 10 μ L pipet ucu yardımıyla tek bir hamlede yara oluşturuldu. Yara oluşturulduğu andaki mikroskop görüntüsü alındı (0. saat). Kontrol grubuna bir uygulama yapılmadı. Yara açılan diğer hücrelere belirlenen dozda, 24, 48 ve 72 saat AXT uygulaması gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası hücreler ile kontrol grubu karşılaştırıldı. Yara kapanana kadar 24 saatte bir mikroskop görüntüsü alındı. Image J yazılım programında görüntüler değerlendirildi.

3.2.1.6. MDA-MB-231 ve HeLa Hücre Hatlarının İnvazyon Deneyi

Kanser hücrelerinin, invaziv hareketleri yani istilacı hareketlerine astaksantin etkisinin gözlenmesi için deneyde, 24 kuyucuklu plakalara insert koyulup içine daha önceden hazırlanarak olan stok 1:10 matrijelden 100 μ l eklendi. Daha sonra jel kıvamının oluşması için 37 °C'de 48 saat inkübe edildi. Matrijelde istenen yapı oluşuktan sonra, kuyucuklara fetal bovine serum (FBS) içeren RPMI-1640 besiyeri eklendi. Matrijel içeren inserte serum içermeyen taze RPMI-1640 besiyeri eklendikten sonra yaklaşık 10^6 hücre/ml kanser hücresinin ekimi ve ilaç uygulaması yapıldı. Kanser hücresi içeren bu besiyeri serum içeren besiyeri bulunduran kuyucuklar içine konulup, 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonunda, hücreler %10 formaldehit ile 10 dk muamele edildi. Daha sonra, Giemsa boyası ile boyama yapıldı (143). ImageJ programı kullanılarak değerlendirildi.

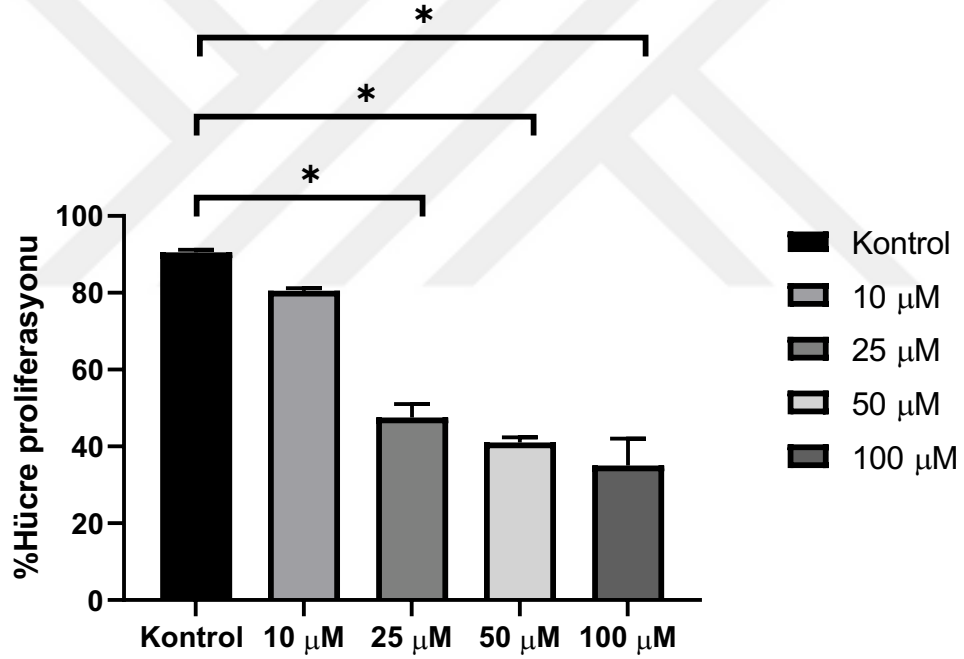
3.2.1.7. Hesaplamalar ve İstatistiksel Analiz

Veriler IBM SPSS 29.0 ve GraphPad Prism 8 programları kullanılarak analiz edildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ve grafiklerle değerlendirildi. Normal dağılım gösteren değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma, göstermeyenler için medyan (çeyreklik aralığı) kullanıldı. Parametrik veriler tek yönlü ANOVA ile, anlamlı fark bulunursa Bonferroni post-hoc testi ile değerlendirildi. Normal dağılmayan veriler için Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri uygulandı; anlamlı fark saptanırsa Bonferroni düzeltilmeli post-hoc ikili karşılaştırmalar yapıldı. $p \leq 0,05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

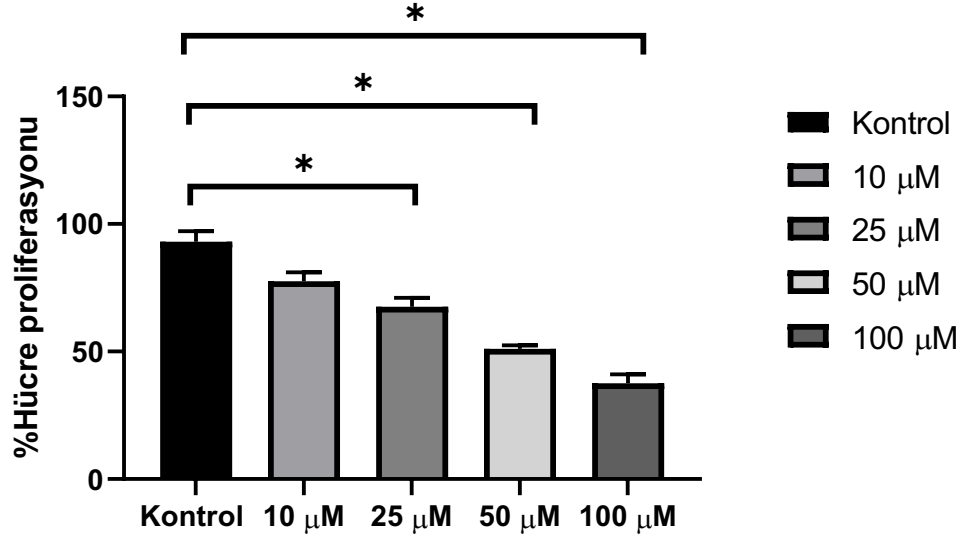
4. BULGULAR

4.1. Sitotoksikite Analiz Sonuçları

AXT'in MDA-MB-231 ve Hela hücre hatlarına uygulanması sonrası toksisite analizi aşağıda verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre MDA-MB-231 hücre hatlarında IC₅₀ değeri 25 μ M bulunmuşken (Şekil 4.1.) Hela hücre hatlarında 50 μ M olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2.).



Şekil 4.1: MDA-MB-231 hücre hatlarında AXT'in sitotoksik etkisi (*: $p < 0,05$).

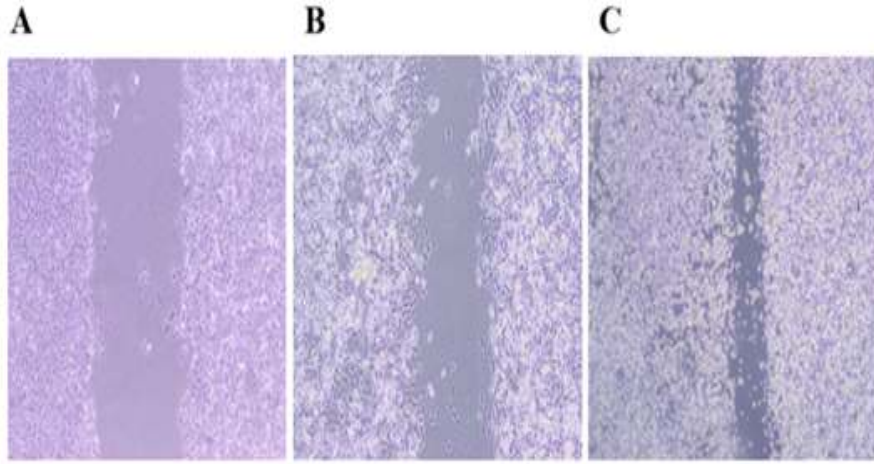


Şekil 4.2: HeLa hücre hatlarında AXT'in sitotoksik etkisi(*: $p < 0,05$).

4.2. Migrasyon Deney Sonuçları

4.2.1. MDA-MB-231 Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları

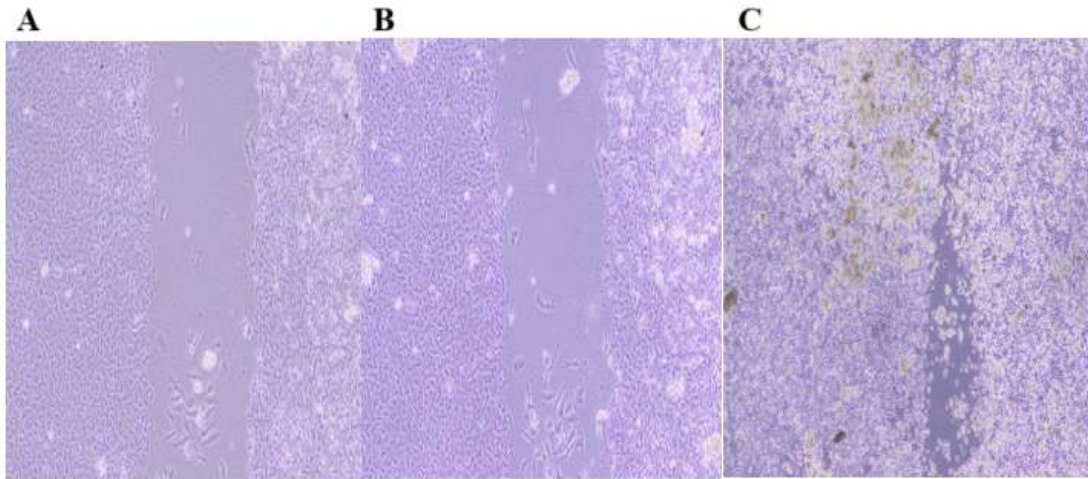
Bu çalışmada MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı 12 kuyucukta yetiştirildi. Kuyu tabanının %80'i kapladıktan sonra yara açıldı ve açılan yara 0. saat olarak belirlendi. Kontrol grubuna, herhangi bir işlem uygulanmamıştır yalnızca kültür koşullarında incelenmiştir. Deney gruplarında ise 1 mL medyum içerisine belirlenen dozlarda AXT, hücelere uygulandı. İlacın uygulandığı yara açıklığı 24, 48 ve 72. saatlerde değerlendirildi.



Şekil 4.3: Kontrol MDA-MB-231 hücre hattı migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. Kontrol 24. saat; B. Kontrol 48. saat; C. Kontrol 72. saat).

4.2.1.1. 10 μ M AXT Sonuçları

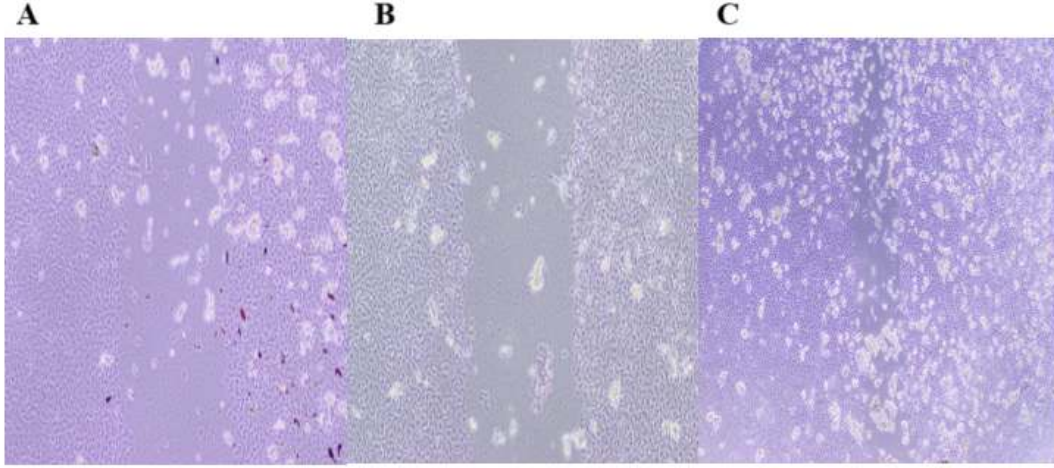
12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 10 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: 10 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 10 μ M AXT 24. saat; B. 10 μ M AXT 48. saat; C. 10 μ M AXT 72. saat).

4.2.1.2. 25 μ M AXT Sonuçları

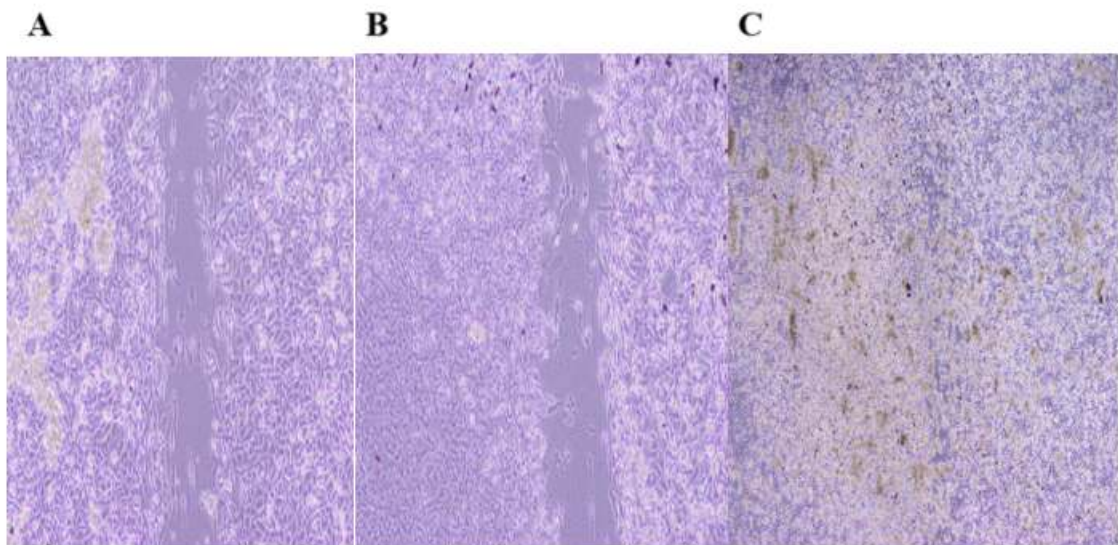
12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 25 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: 25 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 25 μ M AXT 24. saat; B. 25 μ M AXT 48. saat; C. 25 μ M AXT 72. saat).

4.2.1.3. 50 μ M AXT Sonuçları

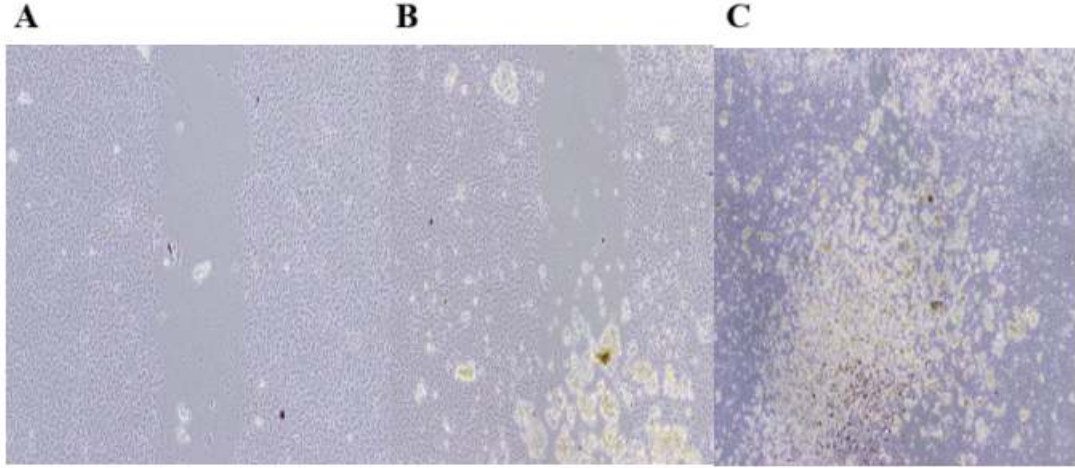
12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 50 μ M ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: 50 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 50 μ M AXT 24. saat; B. 50 μ M AXT 48. saat; C. 50 μ M AXT 72. saat).

4.2.1.4. 100 μ M AXT Sonuçları

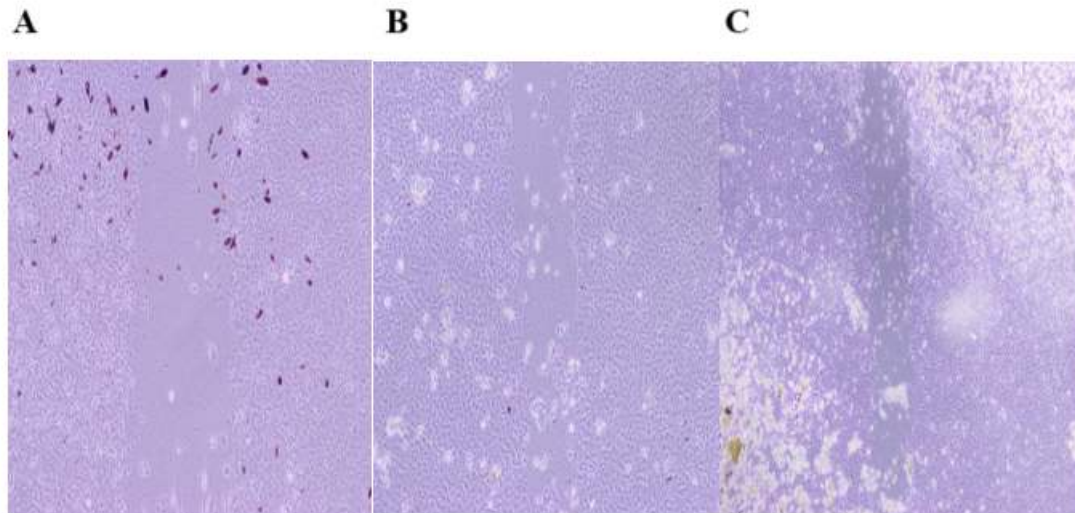
12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 100 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: 100 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 100 μ M AXT 24. saat; B. 100 μ M AXT 48. saat; C. 100 μ M AXT 72. saat).

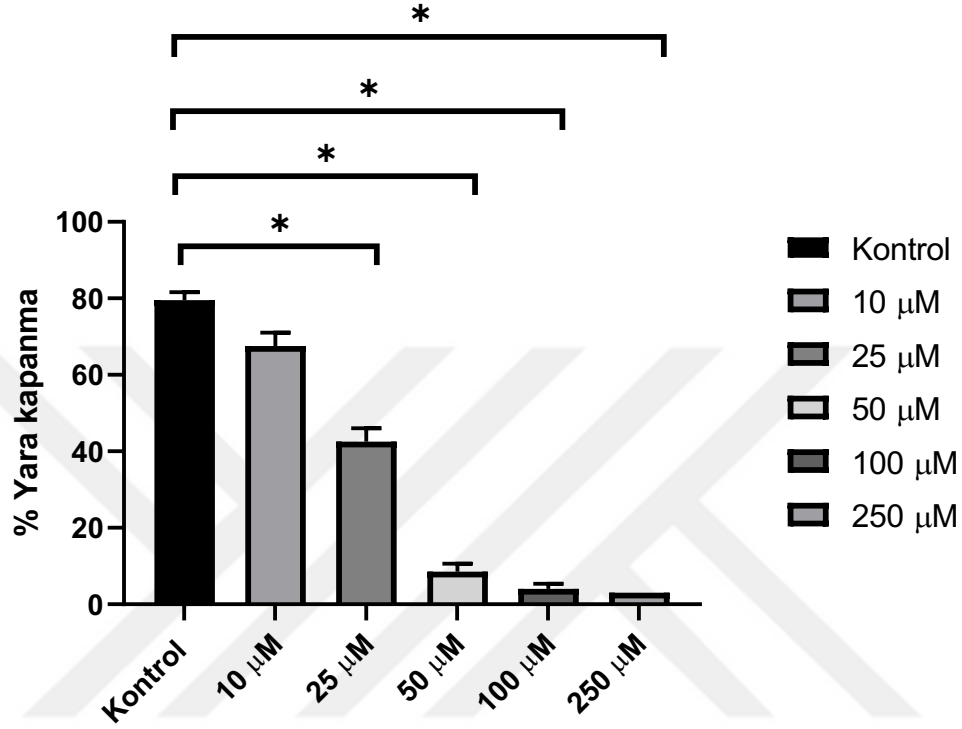
4.2.1.5. 250 μ M AXT Sonuçları

12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 250 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: 250 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 250 μ M AXT 24. saat; B. 250 μ M AXT 48. saat; C. 250 μ M AXT 72. saat).

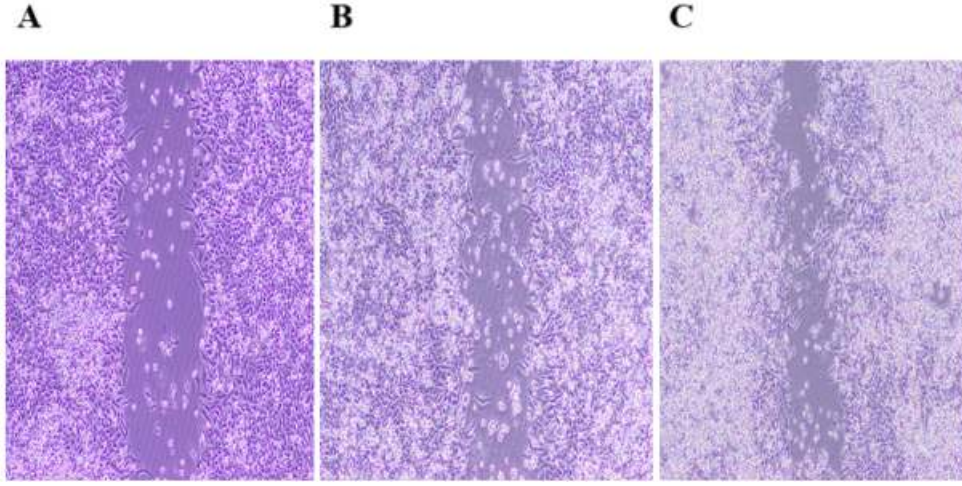
AXT, MDA-MB-231 hücre hatlarına IC₅₀ dozu uygulanmış ve yara kapanma oranı IMAGEJ (<https://imagej.net/ij/>) programı kullanılarak hesaplanmıştır. 72. saatte yapılan analiz sonuçlarına göre kontrol grubuna göre, 25 µM, 50 µM, 100 µM, 250 µM AXT uygulaması sonrası istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. (*p<0,05) (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: AXT uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarında yara kapanma grafiği (*p<0,05).

4.2.2. HeLa Hücre Hattı Migrasyon Deney Sonuçları

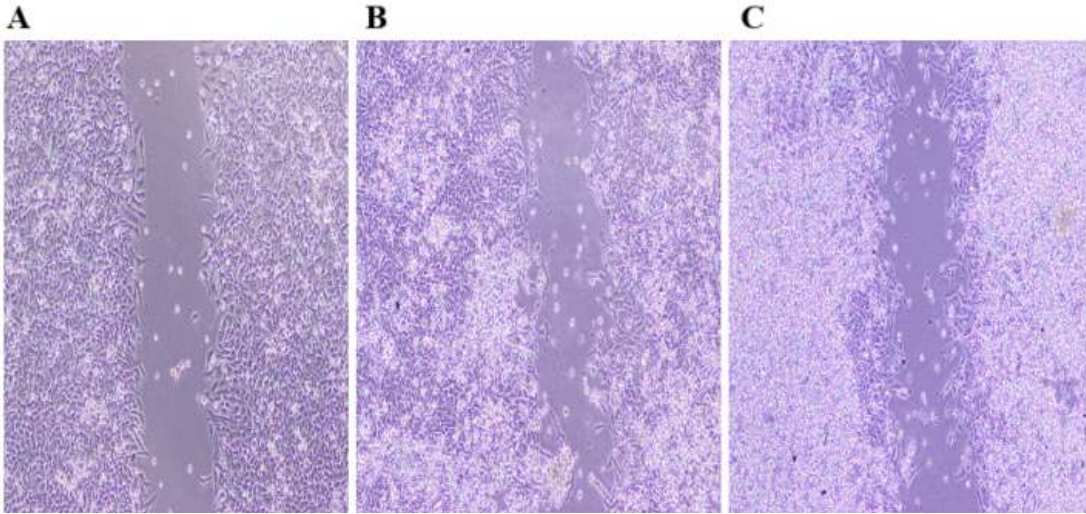
Bu çalışmada HeLa serviks kanseri hücre hattı 12 kuyucukta yetiştirildi. Kuyu tabanının %80'i kapladıktan sonra yara açıldı ve açılan yaranın 0. saat olduğu belirlendi. Kontrol grubuna, herhangi bir işlem uygulanmamıştır yalnızca kültür koşullarında incelenmiştir. Deney gruplarında ise 1 mL medyum içerisine belirlenen dozlarda AXT, hücrelere uygulandı. İlacın uygulandığı yara açıklığı 24, 48 ve 72. saatlerde değerlendirildi.



Şekil 4.10: Kontrol HeLa Hücre Hattı migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. Kontrol 24. saat; B. Kontrol 48. saat; C. Kontrol 72. saat).

4.2.2.1. 10 μ M AXT Sonuçları

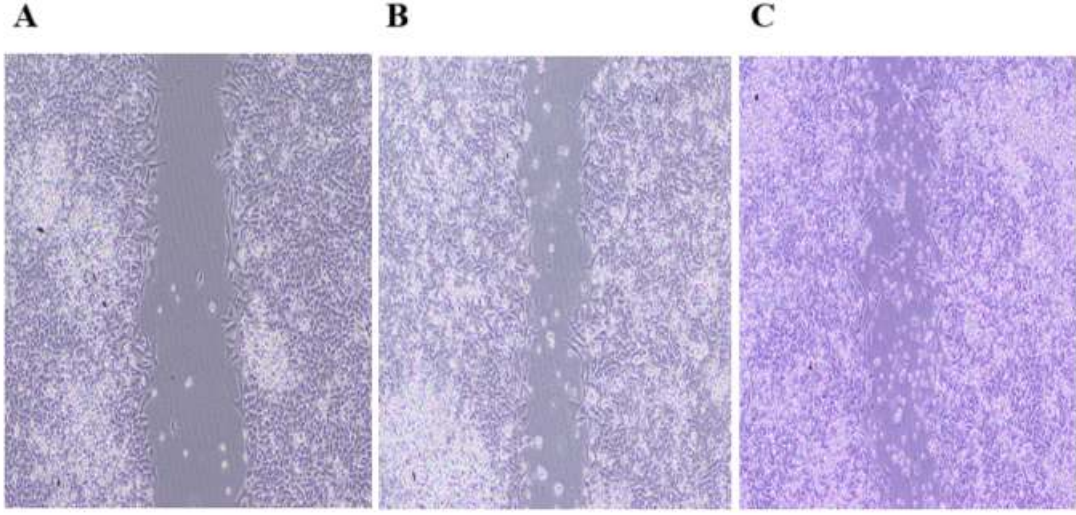
12 kuyucuğa ekilen HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 10 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.11).



Şekil 4.11: 10 μ M AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 10 μ M AXT 24. saat; B. 10 μ M AXT 48. saat; C. 10 μ M AXT 72. saat).

4.2.2.2. 25 μ M AXT Sonuçları

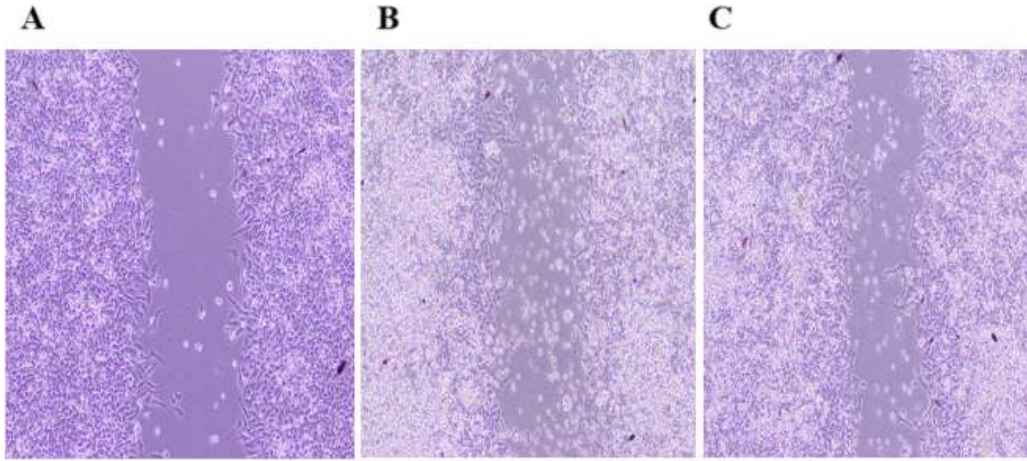
12 kuyucuğa ekilen HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 25 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: 25 µM AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü)
(A. 25 µM AXT 24. saat; B. 25 µM AXT 48. saat; C. 25 µM AXT 72. saat).

4.2.2.3. 50 µM AXT Sonuçları

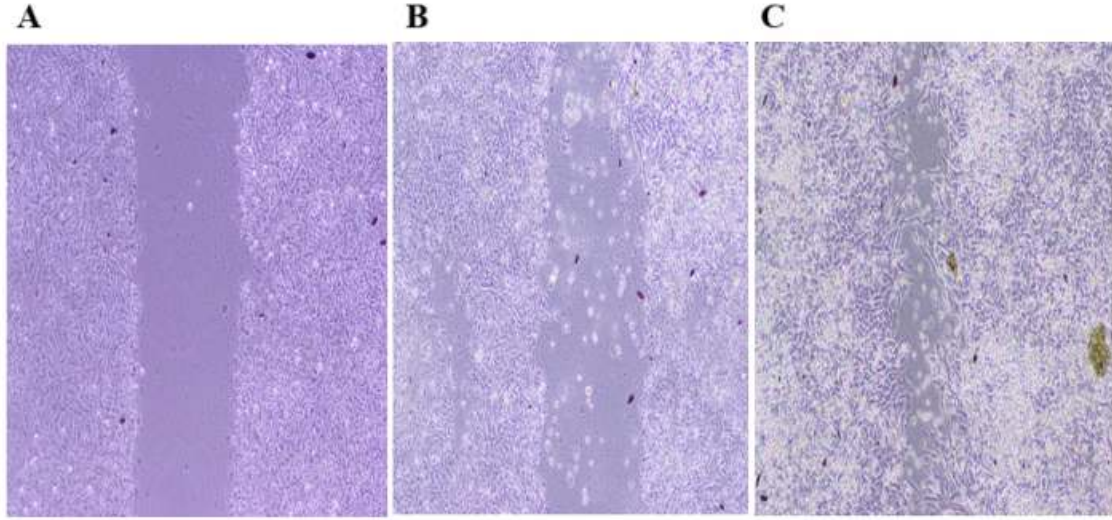
12 kuyucuğa ekilen HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 50 µM AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.13).



Şekil 4.13: 50 µM AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü)
(A. 50 µM AXT 24. saat; B. 50 µM AXT 48. saat; C. 50µM AXT 72. saat).

4.2.2.4. 100 μ M AXT Sonuçları

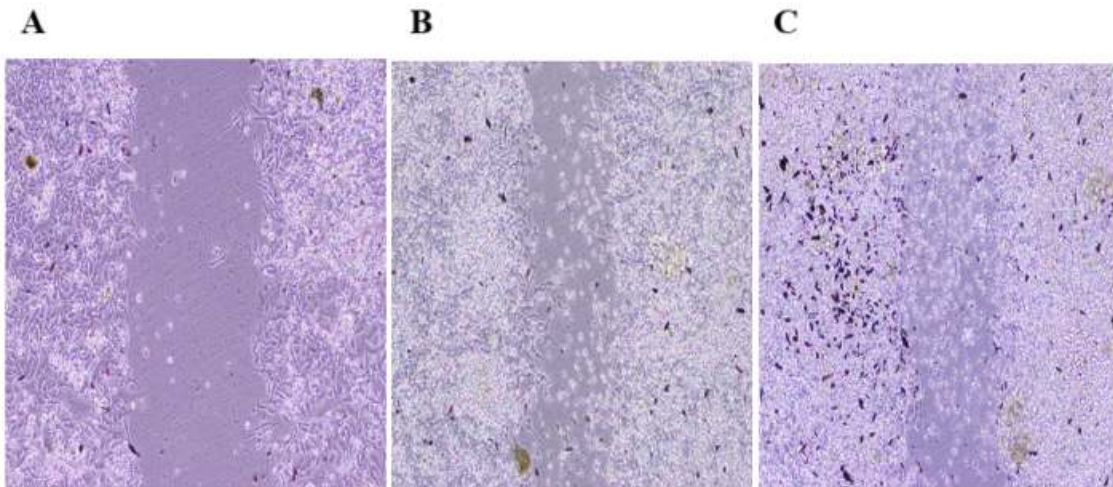
12 kuyucuğa ekilen HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 100 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: 100 μ M AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 100 μ M AXT 24. saat; B. 100 μ M AXT 48. saat; C. 100 μ M AXT 72. saat).

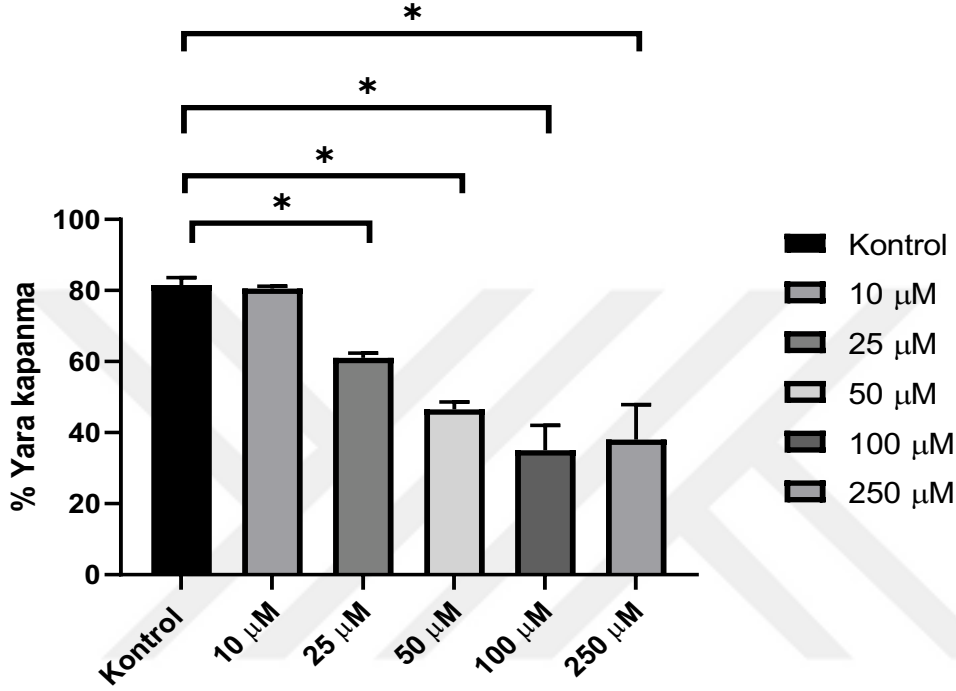
4.2.2.5. 250 μ M AXT Sonuçları

12 kuyucuğa ekilen HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 250 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 24, 48 ve 72 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: 250 μ M AXT uygulanan HeLa migrasyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü) (A. 250 μ M AXT 24. saat; B. 250 μ M AXT 48. saat; C. 250 μ M AXT 72. saat).

AXT, Hela hücre hatlarına IC₅₀ dozu uygulanmış ve yara kapanma oranı IMAGEJ (<https://imagej.net/ij/>) programı kullanılarak hesaplanmıştır. 72. saatte yapılan analiz sonuçlarına göre kontrol grubuna göre, 25 µM, 50 µM, 100 µM, 250 µM uygulaması sonrası istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. (*p<0,05) (Şekil 4.16).

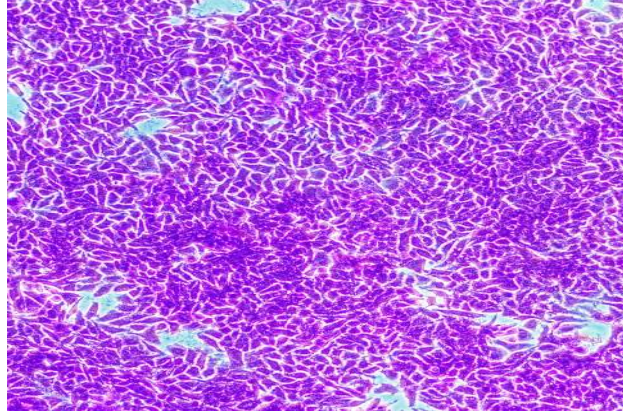


Şekil 4.16: AXT uygulanmış Hela hücre hatlarında yara kapanma grafiği. (*p<0,05).

4.3. İnvazyon Deneyi Sonuçları

4.3.1. MDA-MB-231 İnvazyon Deneyi Sonuçları

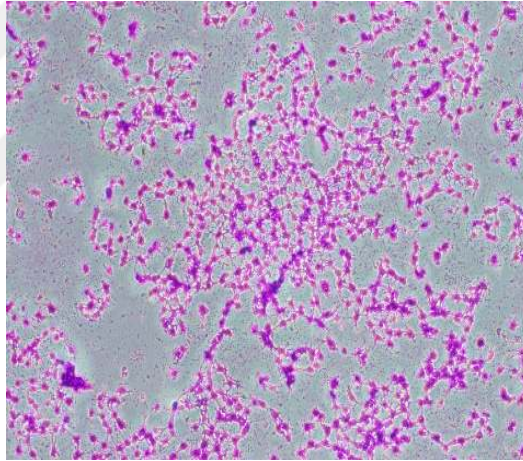
Bu çalışmada MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına uygulanan AXT ilacının invazyon kabiliyetine etkisi boyama deneyi ile görselleştirildi. MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı 12 kuyucuklu bir kuyucuğa ekilip tabanının %80'i kapladıktan sonra 1 mL medyum içerisinde belirlenen dozlarda hücrelere AXT verildi. Her 48 boyama yapıldı ve fotoğrafları çekildi.



Şekil 4.17: Kontrol MDA-MB-231 hücre hattı invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

4.3.1.1. 25 μ M AXT Sonuçları

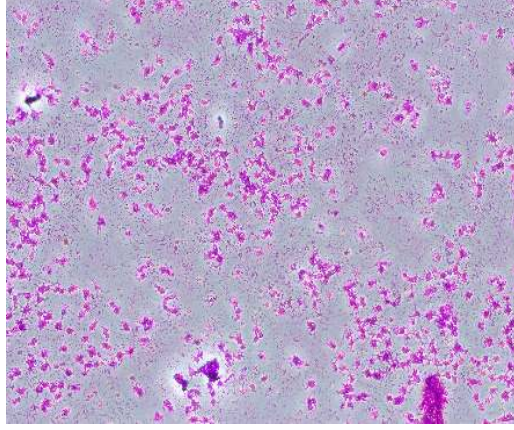
12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 25 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 48 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.18).



Şekil 4.18: 25 μ M AXT uygulanan MDA-MB-231 invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

4.3.1.2. 50 μ M AXT Sonuçları

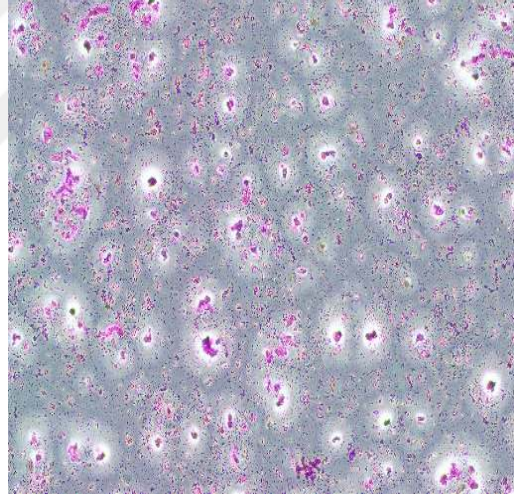
12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 50 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 48 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.19).



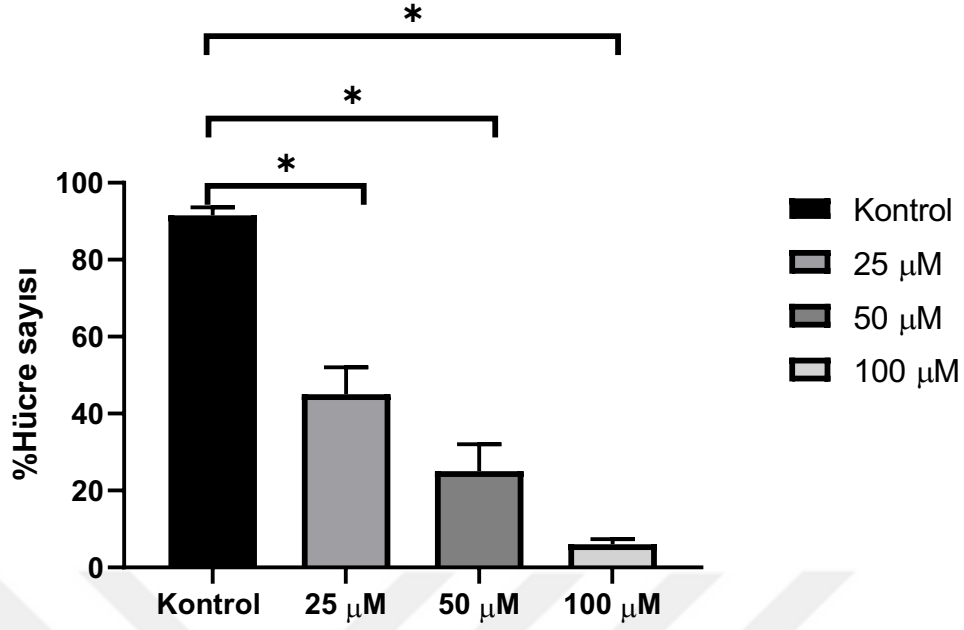
Şekil 4.19: 50 µM AXT uygulanan MDA-MB-231 invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

4.3.1.3. 100 µM AXT Sonuçları

12 kuyucuğa ekilen MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattına 100 µM AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 48 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.20).



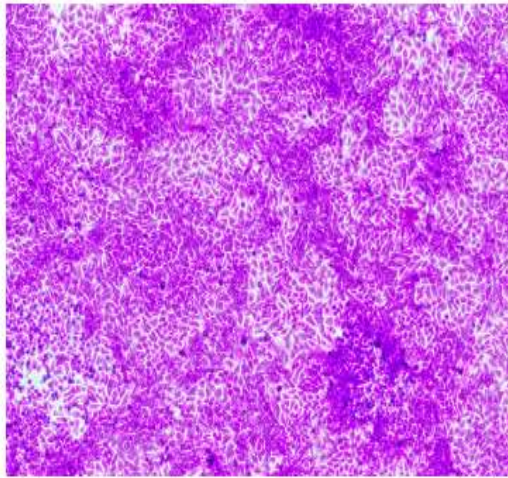
Şekil 4.20: 100 µM AXT uygulanan MDA-MB-231 invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).



Şekil 4.21: AXT uygulanmış MDA-MB-231 hücre hatlarında invazyon analizi grafiği(*p<0,05).

4.3.2. HeLa İnvazyon Deneyi Sonuçları

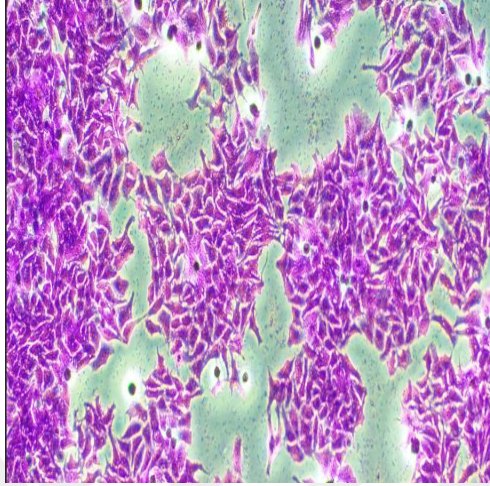
Bu çalışmada HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına uygulanan AXT ilacının invazyon yeteneği üzerindeki etkisi boyama deneyi ile görselleştirildi. HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattı 12 kuyucuklu bir kuyucuğa ekildikten ve tabanının %80'i kapladıktan sonra 1 mL medyum içerisinde belirlenen dozlarda hücrelere ilaç verildi. Her 48 saatte boyama yapıldı ve fotoğrafları çekildi.



Şekil 4.22: Kontrol HeLa invazyon deneyi sonuçları.

4.3.2.1. 25 μ M AXT Sonuçları

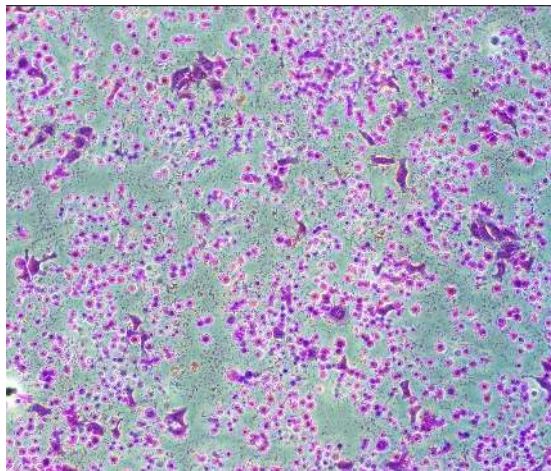
12 kuyucuğa ekilen HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 25 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 48 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.23).



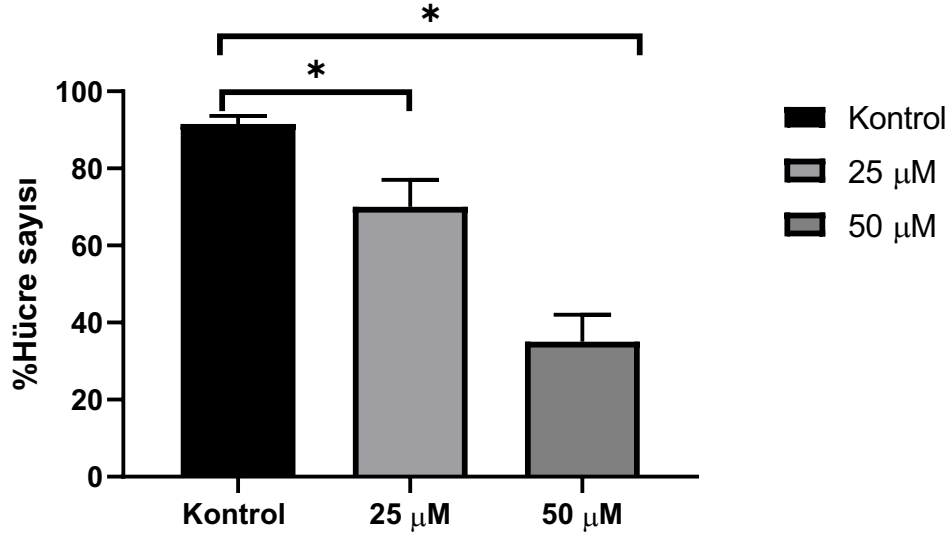
Şekil 4.23: 25 μ M AXT uygulanan invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

4.3.2.2. 50 μ M AXT Sonuçları

12 kuyucuğa ekilen HeLa rahim ağzı kanseri hücre hattına 50 μ M AXT ilacı uygulandı. İlacın verilmesinden 48 saat sonra 10x mikroskop merceği altında görüntüler alındı (Şekil 4.24).



Şekil 4.24: 50 μ M AXT uygulanan invazyon deneyi sonuçları (10x mikroskop görüntüsü).

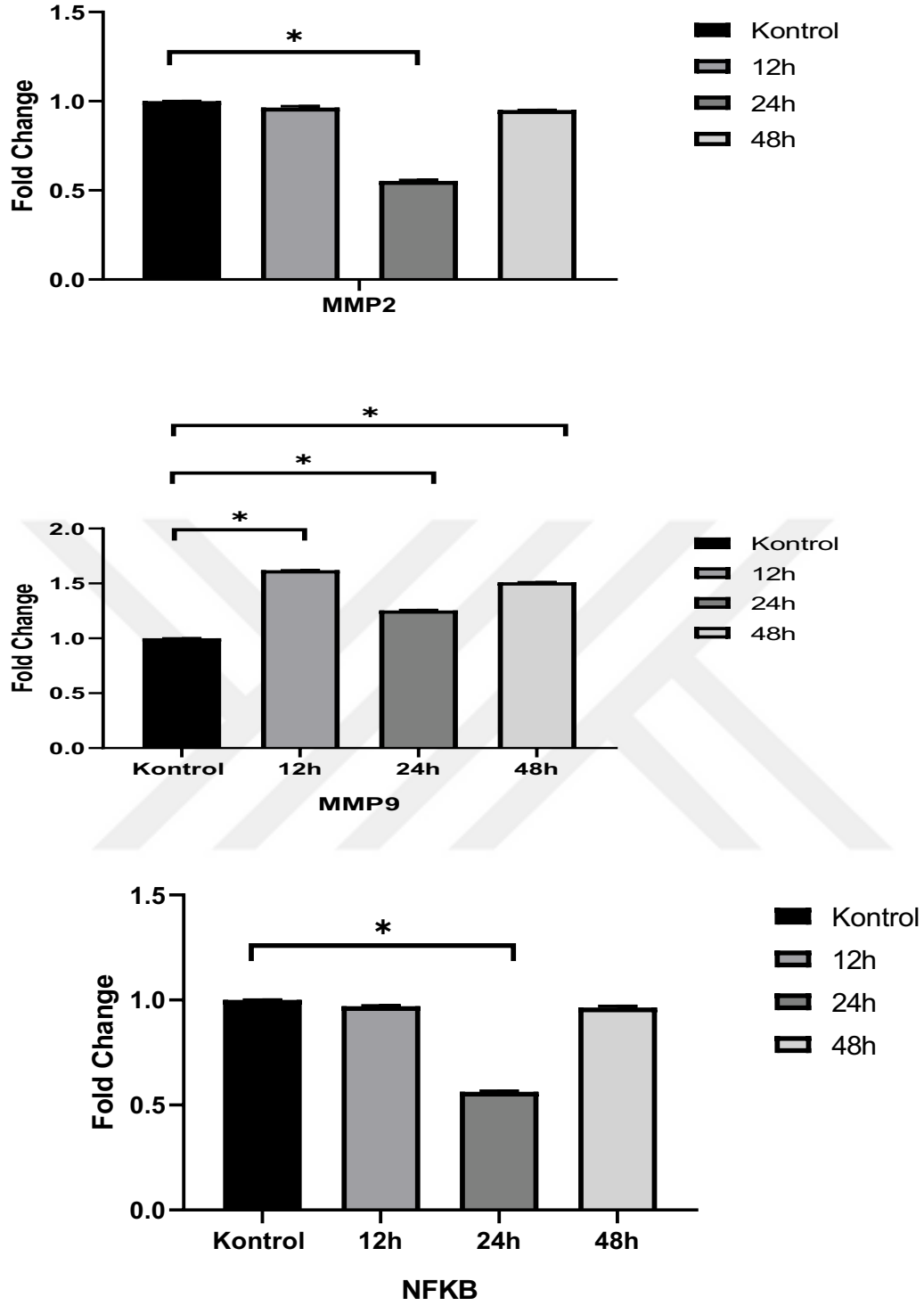


Şekil 4.25: AXT uygulanmış Hela hücre hatlarında invazyon analizi grafiği. (* $p < 0,05$).

4.4. Gerçek Zamanlı (Real-Time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu Sonuçları

4.4.1. MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, NFkB mRNA Ekspresyon Düzeyleri

AXT uygulaması yapılan MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde kontrole kıyasla MMP2 geninin mRNA ekspresyonunun 24. saatte anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Benzer şekilde NFkB geninin mRNA ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla AXT uygulanan grupta 24. saatte anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır ($p < 0,05$). MMP9 geninin ekspresyon düzeylerinin ise kontrole kıyasla AXT uygulanan gruplarda anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 4.26).

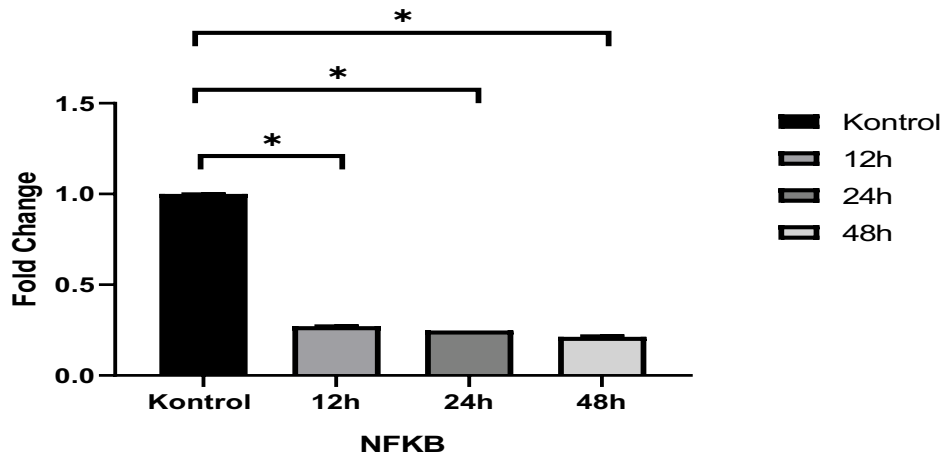
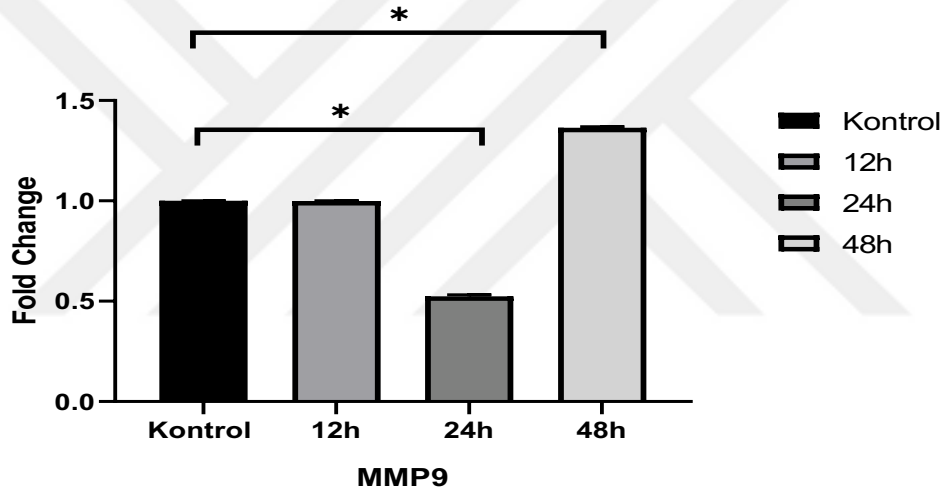
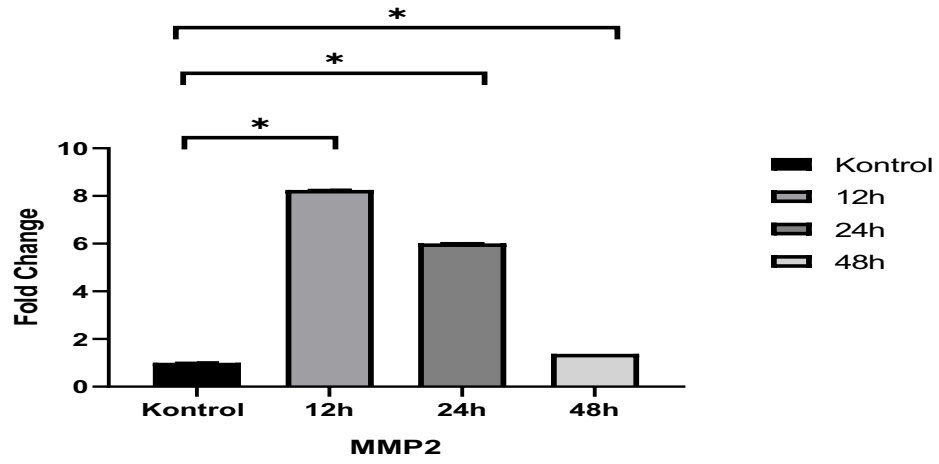


Şekil 4.26: MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB mRNA ekspresyon düzeyleri.

4.4.2. Hela Serviks Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, Nfkb Mrna Ekspresyon Düzeyleri

HeLa serviks kanseri hücrelerinde AXT uygulaması sonrasında, Nfkbgeninin mRNA düzeylerinde kontrol grubuna göre 12., 24. ve 48. saatlerde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır ($p<0,05$). MMP9 geninin mRNA ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla AXT uygulanan grupta 24. anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir ($p<0,05$). 48.saatte ise MMP9 geninin mRNA ekspresyonunun kontrole kıyasla anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir ($p<0,05$). MMP2 gen ekspresyon düzeylerinin, AXT uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 4.27).



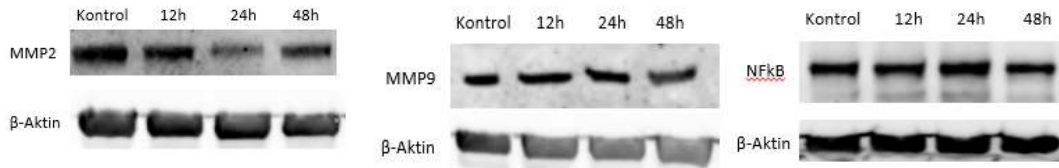


Şekil 4.27: HeLa serviks kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB mRNA ekspresyon düzeyleri.

4.5. Western Blot Deneyi Sonuçları

4.5.1. MDA-MB-231 Meme Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, Nfkb Protein Ekspresyon Düzeyleri

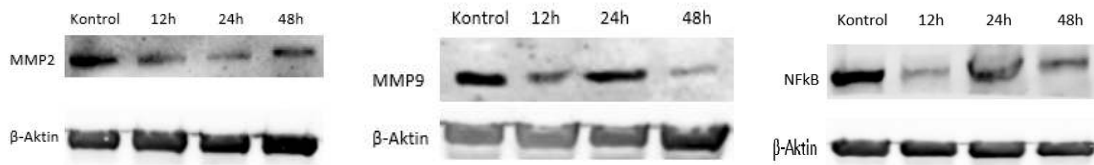
AXT uygulaması yapılan MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde kontrole kıyasla 24. saatte MMP2 protein ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir. MMP9 ve NFkB protein ekspresyonları bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.



Şekil 4.26: MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB protein ekspresyon düzeyleri.

4.5.2. HeLa Serviks Kanseri Hücrelerinde MMP2, MMP9, Nfkb Protein Ekspresyon Düzeyleri

AXT uygulaması yapılan HeLa serviks kanseri hücrelerinde kontrole kıyasla NFkB protein ekspresyonunun anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.29). Bu bulguların NFkB mRNA ekspresyonu ile de uyumlu olduğu saptanmıştır. Ayrıca MMP2 protein ekspresyonunun kontrole kıyasla AXT uygulaması yapılan gruplarda 12. 24. ve 48. saatlerde azaldığı belirlenmiştir. Aynı şekilde MMP9 protein ekspresyonunun da AXT uygulaması yapılan gruplarda 12. 24. ve 48. saatlerde kontrole kıyasla azaldığı saptanmıştır.



Şekil 4.27: HeLa serviks kanseri hücrelerinin kontrol ve AXT uygulaması yapılan gruplarında MMP2, MMP9, NFkB protein ekspresyon düzeyleri.

5. TARTIŞMA

AXT'nin proapoptotik, antikanser, antioksidan ve antiinflamatuvar gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu belirtilmektedir (12). AXT'nin α -tokoferol ve β -karotenden daha etkili antioksidan özellikler sergilediği ve UVA radyasyonundan kaynaklanan DNA hasarını azalttığı gösterilmiştir (144,145). Peritoneal mezotelyal hücrelerde, AXT'nin anti-inflamatuar, antioksidan ve mitokondriyal ROS temizleme aktiviteleri sayesinde epitelyal-mezenkimal geçişi sınırlandırarak nefropati ile ilişkili komplikasyonlar üzerine iyileştirici etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (146). Fare epidermal hücre hattı JB6P + hücrelerinde yapılan bir çalışmada, beş günlük AXT tedavisinden sonra hücrelerin neoplastik dönüşümünün inhibe olduğu ve hücre canlılığında %94'e kadar bir azalma olduğu belirlenmiştir (147). Chen ve ark. [132] iki farklı melanom hücre hattına AXT uygulamasının hücre proliferasyonunu sırasıyla %50 ve %80'e kadar inhibe ettiğini ve melanom hücre migrasyonunu doz bağımlı olarak düşürdüğünü göstermiştir.

Başka bir çalışmada AXT uygulamasının, bronkoalveoler hücreli karsinom (A549) ve skuamöz hücreli karsinom (H1703) gibi küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde proliferasyonu baskıladığı ve bu hücrelerde koloni oluşturma yeteneğini sırasıyla %50.29 ve %39.71 oranında düşürdüğü tespit edilmiştir (148). AXT'nin etkisi üzerine yapılan ilk çalışmalardan bazıları AXT'nin meme kanseri (MCF-7 ve MDA-MB-468) hücrelerinin hücre canlılığını önemli ölçüde baskılamadığını belirtse de, daha ileri araştırmalar AXT'nin meme adenokarsinomu üzerine sitotoksik aktivitesini göstermiştir (149,150). Bharathiraja ve ark. [151,152] yaptıkları çalışma, MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerine karşı AXT'nin antikanser potansiyeli olduğunu ortaya çıkardı, bir başka çalışmada ise AXT'nin MCF-7 meme kanseri hücrelerinin ölümünü indüklediği belirlendi. Diğer yandan AXT'nin, normal meme epitel hücreleri üzerinde toksisite göstermediği de tespit edilmiştir (153).

MMP2 ve MMP9 ekstrasellüler matriksi degrade eden endopeptidazlardır ve bu şekilde kanser invazyonu ve migrasyonuna katkı sağlarlar (154). Kowshik ve ark, [155] çalışmalarında AXT'nin MMP2 ve MMP9 ekspresyonu üzerindeki etkilerini incelemişler ve kanser hücrelerinde MMP2 ve MMP9'un aşırı eksprese edildiğini ve invazyon sırasında

ECM'i parçaladıklarını tespit etmişlerdir. Kanser hücrelerine astaksatin uygulaması yaptıktan sonra ise, MMP2 ve MMP9'un mRNA ve protein ekspresyonlarında azalma olduğunu belirlemişlerdir. Oral skuamöz hücreli karsinom hücreleri üzerinde gerçekleştirilen başka bir çalışmada, astaksantin uygulanan hücrelerde MMP2, MMP9 ve NF- κ B'ye ait mRNA ve protein ekspresyon düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla azaldığı tespit edilmiştir (156). Nagendraprabhu ve ark, [157] kolon kanseri oluşturdıkları rat modelinde AXT uygulamış ve AXT verilen gruplarda MMP2, MMP9 ve Nf κ B protein ekspresyon düzeylerinin azaldığını saptamışlardır.

Yukarıdaki çalışmalarla uyumlu olarak bu çalışmada astaksantin MDA-MB-231 meme kanseri ve HeLa serviks kanseri hücreleri üzerine sitotoksik etkisi olduğu belirlendi. MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda, 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M ve 250 μ M konsantrasyonlarındaki uygulamaların yara iyileşmesi üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, 25 μ M, 50 μ M ve 100 μ M dozlarının hücre invazyonu üzerinde de anlamlı düzeyde etkili olduğu saptanmıştır. AXT uygulanan MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinde, kontrol grubuna kıyasla 24. saatte MMP2 ve Nf κ B mRNA ekspresyon düzeylerinde azalma gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, AXT uygulanan gruplarda 24. saatte MMP2 protein ekspresyonunun da azaldığı belirlenmiştir. Ancak, MMP9 ve Nf κ B protein ekspresyon düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir.

AXT'nin HeLa serviks kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle 25 μ M, 50 μ M, 100 μ M ve 250 μ M konsantrasyonlarında uygulanan tedavilerin yara iyileşmesi üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, 25 μ M ve 50 μ M dozlarının hücre invazyonunu anlamlı düzeyde baskıladığı belirlenmiştir. Bu çalışmada, 12., 24. ve 48. saatlerde AXT uygulanan HeLa hücrelerinde, kontrol grubuna kıyasla Nf κ B mRNA ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, MMP9 geninin mRNA düzeyinde ekspresyonunun 24. saatte AXT uygulanan grupta kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. 48. saatte ise MMP9 geninin mRNA ekspresyonunda kontrole kıyasla anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Öte yandan, MMP2 gen ekspresyonu da AXT uygulanan gruplarda kontrole kıyasla anlamlı şekilde artmıştır. mRNA bulguları ile uyumlu olarak AXT uygulaması yapılan tüm gruplarda kontrole kıyasla Nf κ B protein ekspresyonunun da anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca MMP2 ve MMP9 protein ekspresyonlarının kontrole kıyasla AXT uygulaması yapılan gruplarda 12. 24. ve 48. saatlerde azaldığı belirlenmiştir.

MDA-MB-231 meme kanseri ve HeLa serviks kanseri hücrelerinde AXT uygulamasını takiben, belirli zaman noktalarında kontrol grubuna kıyasla MMP2 ve MMP9 mRNA ekspresyon düzeylerinde artış saptanmıştır. Bu sonuçların, AXT'nin söz konusu genlerin ekspresyonunu baskılayan düzenleyici genleri inhibe etmesinden ya da MMP2 ve MMP9'un transkripsiyonunu düzenleyen transkripsiyon faktörlerini aktive etmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ancak protein düzeylerinde gözlemlenen genel azalma, translasyon sonrası mekanizmaların veya protein stabilitesindeki değişimlerin de AXT'nin etkilerine dahil olabileceğini düşündürmektedir.

MMP2 ve MMP9, tümör hücrelerinin ekstrasellüler matriksi parçalayarak invazyon ve metastaz yeteneklerini artırmalarında kilit rol oynayan metalloproteinazlardır (154). NfκB ise, bu proteazların transkripsiyonel aktivitesini doğrudan ya da dolaylı yollarla düzenleyebilen bir transkripsiyon faktörüdür ve aynı zamanda hücre sağkalımı, inflamasyon ve metastaz ile ilişkili birçok genin ekspresyonunda rol almaktadır (47,48,88). Bu çalışmadan elde edilen bulgular, AXT'nin MMP2, MMP9 ve NfκB sinyal yolları üzerinde düzenleyici etkiler gösterebildiğine işaret etmektedir ve bu etkiler aracılığıyla tümör hücrelerinin invazyon ve migrasyon kapasitelerini baskılayabileceğini göstermektedir. Aynı zamanda AXT'nin hem transkripsiyonel hem de post-translasyonel düzeyde etkili olabileceğini ve bu etkinin doza ve zamana bağlı olarak değişebileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmanın bazı sınırlılıkları bulunmaktadır. MMP2, MMP9 ve NfκB ekspresyon düzeyleri analiz edilmiş olmakla birlikte, ilgili sinyal yolları ve bu genlerle ilişkili diğer genlerin kapsamlı bir şekilde incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, elde edilen bulguların doğrulanması ve mekanistik etkinin derinleştirilmesi amacıyla in vivo modellerde gerçekleştirilmiş çalışmaların yapılması önem arz etmektedir.

Bu sonuçlar, güçlü bir antioksidan olan AXT'nin, tümör gelişimi ve ilerlemesinde önemli rol oynayan MMP2, MMP9 ve NfκB gibi moleküller üzerindeki baskılayıcı etkilerini ortaya koymakta ve AXT'nin antitümöral özelliklere sahip olabileceğini, dolayısıyla potansiyel bir tedavi ajanı olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, AXT, kanser hücrelerinin elimine edilmesi amacıyla tedaviye yönelik potansiyel bir molekül olarak değerlendirilebilir. Bu konuya ilişkin mevcut literatür sınırlıdır ve AXT'nin kanser hücreleri üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için ileri düzeyde ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. He Y, Deng F, Yang S, Wang D, Chen X, Zhong S, et al. Exosomal microRNA: a novel biomarker for breast cancer. *Biomark Med.* 2018;12(2):177–88.
2. Xu H, Yu S, Liu Q, Yuan X, Mani S, Pestell RG, et al. Recent advances of highly selective CDK4/6 inhibitors in breast cancer. *J Hematol Oncol.* 2017;10:97.
3. Blows FM, Driver KE, Schmidt MK, et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med.* 2010;7(5):e1000279.
4. Haque R, Ahmed SA, Inzhakova G, et al. Impact of breast cancer subtypes and treatment on survival: an analysis spanning two decades. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2012;21:1848–55.
5. Buskwofie A, David-West G, Clare CA. A review of cervical cancer: incidence and disparities. *J Natl Med Assoc.* 2020;112(2):229–32.
6. Burd EM. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16(1):1–17.
7. Duru G. Kadınların kadercilik eğilimleri ile serviks kanserin erken tanısına yönelik tutumları arasındaki ilişki [Yüksek lisans tezi]. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Eğitim Enstitüsü, Hemşirelik Anabilim Dalı; 2020.
8. Jia Y, Chen Y, Wang Q, Jayasinghe U, Luo X, Wei Q, et al. Exosome: emerging biomarker in breast cancer. *Oncotarget.* 2017;8(25):41717–33.
9. Patridge E, Gareiss P, Kinch MS, Hoyer D. An analysis of FDA-approved drugs: natural products and their derivatives. *Drug Discov Today.* 2016;21(2):204–7.
10. Fakhri S, Abbaszadeh F, Dargahi L, Astaxanthin JM. A mechanistic review on its biological activities and health benefits. *Pharmacol Res.* 2018;136:1–20.

11. Astaxanthin KP. Cell membrane nutrient with diverse clinical benefits and antiaging potential. *Altern Med Rev*. 2011;16(4).
12. Ambati RR, Phang SM, Ravi S, Aswathanarayana RG. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—a review. *Mar Drugs*. 2014;12(1):128–52.
13. Seabra LMAJ, Pedrosa LFC. Astaxanthin structural and functional aspects. *Rev Nutr*. 2010;23(6):1041–50.
14. Salvia AM, CuvIELlo F, Coluzzi S, Nuccorini R, Attolico I, Pascale SP, et al. Expression of some ATP-binding cassette transporters in acute myeloid leukemia. *Hematol Rep*. 2017;9(4):137–41.
15. Choi HD, Youn YK, Shin WG. Positive effects of astaxanthin on lipid profiles and oxidative stress in overweight subjects. *Plant Foods Hum Nutr*. 2011;66(4):363–9.
16. Li J, Sun J, Li B, Liu Z. Astaxanthin protects ARPE-19 cells against oxidative stress injury induced by hydrogen peroxide. *Biotechnol Biotechnol Equip*. 2018;32(5):1277–84.
17. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49.
18. Boussios S, Sanchez E, Sheriff M. Frontiers of molecular biology of cancer. *Int J Mol Sci*. 2023;24(24):17187.
19. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100:57–70.
20. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144:646–74.
21. Harrington KJ, NencIares P. The biology of cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2023;51(1):1–6.
22. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972;26:239–57.
23. Morana O, Wood W, Gregory CD. The apoptosis paradox in cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(3):1328.

24. Green DR. Cell death: apoptosis and other means to an end. New York (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2018.
25. Julien O, Wells JA. Caspases and their substrates. *Cell Death Differ.* 2017;24:1380–9.
26. Lüthi AU, Martin SJ. The CASBAH: a searchable database of caspase substrates. *Cell Death Differ.* 2007;14(4):641–50.
27. Crawford ED, Seaman JE, Agard N, Hsu GW, Julien O, et al. The DegraBase: a database of proteolysis in healthy and apoptotic human cells. *Mol Cell Proteomics.* 2013;12(3):813–24.
28. Bakhshi A, Jensen JP, Goldman P, Wright JJ, McBride OW, et al. Cloning the chromosomal breakpoint of t(14;18) human lymphomas: clustering around JH on chromosome 14 and near a transcriptional unit on 18. *Cell.* 1985;41(3):899–906.
29. Duffy MJ, McGowan PM, Gallagher WM. Cancer invasion and metastasis: changing views. *J Pathol.* 2008;214(3):283–93.
30. Hanahan D. Rethinking the war on cancer. *Lancet.* 2014;383(9916):558–63.
31. Chaffer CL, Weinberg RA. A perspective on cancer cell metastasis. *Science.* 2011;331(6024):1559–64.
32. Nguyen DX, Bos PD, Massagué J. Metastasis: from dissemination to organ-specific colonization. *Nat Rev Cancer.* 2009;9(4):274–84.
33. Coleman RE, Croucher PI, Padhani AR, Clézardin P, Chow E, Fallon M, et al. Bone metastases. *Nat Rev Dis Primers.* 2020;6(1):83.
34. Coleman RE. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity. *Clin Cancer Res.* 2006;12(20 Pt 2):6243s–9s.
35. Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med.* 2006;12(8):895–904.
36. Lintz M, Muñoz A, Reinhart-King CA. The mechanics of single cell and collective migration of tumor cells. *J Biomech Eng.* 2017;139(2):021005.
37. Hanahan D, Bergers G, Bergsland E. Less is more, regularly: metronomic dosing of cytotoxic drugs can target tumor angiogenesis in mice. *J Clin Invest.* 2000;105(8):1045–7.

38. Friedl P, Wolf K. Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(5):362–74.
39. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*. 2010;141(1):52–67.
40. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med*. 2008;29(5):290–308.
41. Bonnans C, Chou J, Werb Z. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(12):786–801.
42. Jackson BC, Nebert DW, Vasiliou V. Update of human and mouse matrix metalloproteinase families. *Hum Genomics*. 2010;4(3):194–201.
43. Mittal R, Patel AP, Debs LH, Nguyen D, Patel K, Grati M, et al. Intricate functions of matrix metalloproteinases in physiological and pathological conditions. *J Cell Physiol*. 2016;231(12):2599–621.
44. Gonzalez-Avila G, Sommer B, Mendoza-Posada DA, Ramos C, Garcia-Hernandez AA, Falfan-Valencia R. Matrix metalloproteinases participation in the metastatic process and their diagnostic and therapeutic applications in cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2019;137:57–83.
45. Pei D, Weiss SJ. Furin-dependent intracellular activation of the human stromelysin-3 zymogen. *Nature*. 1995;375(6528):244–7.
46. Jackson HW, Defamie V, Waterhouse P, Khokha R. TIMPs: versatile extracellular regulators in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2017;17(1):38–53.
47. Yan C, Boyd DD. Regulation of matrix metalloproteinase gene expression. *J Cell Physiol*. 2007;211(1):19–26.
48. Kim YS, Joh TH. Matrix metalloproteinases, new insights into the understanding of neurodegenerative disorders. *Biomol Ther (Seoul)*. 2012;20(2):133–43.
49. Kolb C, Mauch S, Peter HH, Krawinkel U, Sedlacek R. The matrix metalloproteinase RASI-1 is expressed in synovial blood vessels of a rheumatoid arthritis patient. *Immunol Lett*. 1997;57(1-3):83–8.

50. Hadler-Olsen E, Winberg JO, Uhlin-Hansen L. Matrix metalloproteinases in cancer: their value as diagnostic and prognostic markers and therapeutic targets. *Tumour Biol.* 2013;34(4):2041–51.
51. Mehner C, Hockla A, Miller E, Ran S, Radisky DC, Radisky ES. Tumor cell-produced matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) drives malignant progression and metastasis of basal-like triple negative breast cancer. *Oncotarget.* 2014;5(9):2736–49.
52. Partyka R, Gonciarz M, Jałowicki P, Kokocinska D, Byrczek T. VEGF and metalloproteinase 2 (MMP-2) expression in gastric cancer tissue. *Med Sci Monit.* 2012;18(8):BR130–4.
53. Lee H, Chang KW, Yang HY, Lin PW, Chen SU, Huang YL. MT1-MMP regulates MMP-2 expression and angiogenesis-related functions in human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;437(2):232–8.
54. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;147:1–73.
55. Collier IE, Goldberg GI. H-ras oncogene-transformed human bronchial epithelial cells (TBE-1) secrete a single metalloprotease capable of degrading basement membrane collagen. *J Biol Chem.* 1988;263(14):6579–87.
56. Murphy G, Nguyen Q, Cockett MI, Atkinson SJ, Allan JA, Knight CG, et al. Assessment of the role of the fibronectin-like domain of gelatinase A by analysis of a deletion mutant. *J Biol Chem.* 1994;269(9):6632–6.
57. Chakrabarti S, Patel KD. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 in pulmonary pathology. *Exp Lung Res.* 2005;31(6):599–621.
58. Sanyal S, Amin SA, Banerjee P, Gayen S, Jha T. A review of MMP-2 structures and binding mode analysis of its inhibitors to strategize structure-based drug design. *Bioorg Med Chem.* 2022;74:117044.
59. Zitka O, Kukacka J, Krizkova S, Huska D, Adam V, Masarik M, et al. Matrix metalloproteinases. *Curr Med Chem.* 2010;17(31):3751–68.
60. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;147:1–73.

61. Wolosowicz M, Prokopiuk S, Kaminski TW. The complex role of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in health and disease. *Int J Mol Sci.* 2024;25(13):13691.
62. Liu J, Khalil RA. Matrix metalloproteinase inhibitors as investigational and therapeutic tools in unrestrained tissue remodeling and pathological disorders. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;148:355–420.
63. Zhu J, Hoop CL, Case DA, Baum J. Cryptic binding sites become accessible through surface reconstruction of the type I collagen fibril. *Sci Rep.* 2018;8(1):16646.
64. Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino Acids.* 2011;41(2):271–90.
65. Amălinei C, Căruntu ID, Bălan RA. Biology of metalloproteinases. *Rom J Morphol Embryol.* 2007;48(3):323–34.
66. Sopata I, Dancewicz AM. Presence of a gelatin-specific proteinase and its latent form in human leucocytes. *Biochim Biophys Acta.* 1974;370(4):510–23.
67. Wilhelm SM, Collier IE, Marmer BL, Eisen AZ, Grant GA, Goldberg GI. SV40-transformed human lung fibroblasts secrete a 92-kDa type IV collagenase which is identical to that secreted by normal human macrophages. *J Biol Chem.* 1989;264(29):17213–21. Erratum in: *J Biol Chem.* 1990;265(6):22570.
68. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):562–73.
69. Bruschi F, Pinto B. The significance of matrix metalloproteinases in parasitic infections involving the central nervous system. *Pathogens.* 2013;2(1):105–29.
70. Roeb E, Schleinkofer K, Kernebeck T, Pötsch S, Jansen B, Behrmann I, et al. The matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) hemopexin domain is a novel gelatin binding domain and acts as an antagonist. *J Biol Chem.* 2002;277(52):50326–32.
71. Bergers G, Brekken R, McMahon G, Vu TH, Itoh T, Tamaki K, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis. *Nat Cell Biol.* 2000;2(10):737–44.
72. Christensen J, Shastri VP. Matrix-metalloproteinase-9 is cleaved and activated by cathepsin K. *BMC Res Notes.* 2015;8:322.

73. Van Wart EH, Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(14):5578–82.
74. Maeda H, Okamoto T, Akaike T. Human matrix metalloprotease activation by insults of bacterial infection involving proteases and free radicals. *Biol Chem*. 1998;379(2):193–200.
75. Crocker SJ, Pagenstecher A, Campbell IL. The TIMPs tango with MMPs and more in the central nervous system. *J Neurosci Res*. 2004;75(1):1–11.
76. Lemjabbar H, Gosset P, Lamblin C, Tillie I, Hartmann D, Wallaert B, et al. Contribution of 92 kDa gelatinase/type IV collagenase in bronchial inflammation during status asthmaticus. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159(4 Pt 1):1298–307.
77. Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2002;37(6):375–536.
78. Gupta A, Zhou CQ, Chellaiah MA. Osteopontin and MMP9: associations with VEGF expression/secretion and angiogenesis in PC3 prostate cancer cells. *Cancers (Basel)*. 2013;5(2):617–38.
79. Wang Q, Yu W, Huang T, Zhu Y, Huang C. RUNX2 promotes hepatocellular carcinoma cell migration and invasion by upregulating MMP9 expression. *Oncol Rep*. 2016;36(5):2777–84.
80. Baruch RR, Melinscak H, Lo J, Liu Y, Yeung O, Hurta RA. Altered matrix metalloproteinase expression associated with oncogene-mediated cellular transformation and metastasis formation. *Cell Biol Int*. 2001;25(5):411–20.
81. Oeckinghaus A, Ghosh S. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(4):a000034.
82. Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell*. 2008;132(3):344–62.
83. Iacobazzi D, Convertini P, Todisco S, Santarsiero A, Iacobazzi V, Infantino V. New insights into NfκB signaling in innate immunity: focus on immunometabolic crosstalks. *Biology (Basel)*. 2023;12(6):776.

84. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NfκB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer*. 2002;2(4):301–10.
85. Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NfκB and IKK function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(1):49–62.
86. Karin M, Lin A. NF-κB at the crossroads of life and death. *Nat Immunol*. 2002;3(3):221–6.
87. Karin M, Delhase M. The IκB kinase (IKK) and NF-κB: key elements of proinflammatory signalling. *Semin Immunol*. 2000;12(1):85–98.
88. Hayden MS, West AP, Ghosh S. NF-κB and the immune response. *Oncogene*. 2006;25(51):6758–80.
89. Gilmore TD. NF-κB and human cancer: what have we learned over the past 35 years? *Biomedicines*. 2021;9(8):889.
90. Tilstra JS, Clauson CL, Niedernhofer LJ, Robbins PD. NF-κB in aging and disease. *Aging Dis*. 2011;2(6):449–65.
91. TR Ministry of Health. Turkey Cancer Control Programme 2013–2018. Ankara: TR Ministry of Health; 2016.
92. Chen S, Parmigiani G. Meta-analysis of BRCA1 and BRCA2 penetrance. *J Clin Oncol*. 2007;25(11):1329–33.
93. ACOG Committee Opinion No. 793: Hereditary cancer syndromes and risk assessment. *Obstet Gynecol*. 2019;134(6):1366–7.
94. McTiernan A. Behavioral risk factors in breast cancer: can risk be modified? *Oncologist*. 2003;8(4):326–34.
95. Hortobagyi GN, Connolly JL, D’Orsi CJ, et al. Breast. In: Amin MB, Edge SB, Greene FL, et al., editors. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York: Springer; 2018. p. 589–636.
96. Traves KP, Cokenakes SEH. Breast cancer treatment. *Am Fam Physician*. 2021;104(2):171–8.
97. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thurlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the

St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2206–23.

98. Dai X, Li T, Bai Z, Yang Y, Liu X, Zhan J, et al. Breast cancer intrinsic subtype classification, clinical use and future trends. *Am J Cancer Res.* 2015;5(10):2929–43.
99. Zubair M, Wang S, Ali N. Advanced approaches to breast cancer classification and diagnosis. *Front Pharmacol.* 2021;11:632079.
100. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424.
101. World Health Organization. Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer [Internet]. Geneva: WHO; 2016 [cited 2016 Jun 10]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs380/en/>
102. Cohen PA, Jhingran A, Oaknin A, Denny L. Cervical cancer. *Lancet.* 2019;393(10167):169–82.
103. Dempsey AF. Human papillomavirus: the usefulness of risk factors in determining who should get vaccinated. *Rev Obstet Gynecol.* 2008;1(3):122–8.
104. World Health Organization. Cervical Cancer Elimination Initiative [Internet]. Geneva: WHO; 2022 [cited 2023 Jan 9]. Available from: <https://www.who.int/initiatives/cervical-cancer-elimination-initiative>
105. Graham S. Human papillomavirus: gene expression, regulation and prospects for novel diagnostic methods and antiviral therapies. *Future Microbiol.* 2010;5(9):1493–506.
106. Jendoubi Ferchichi M, Satouri L, Ghoul F, Malek Mellouli MK, Derbel AM, Makni MK, Reziga H, Baba A, Zili M, Segondy M, et al. Phylogeny and classification of human papillomavirus (HPV)16 and HPV18 variants based on E6 and L1 genes in Tunisian women with cervical lesions. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018;19(12):3361–6.
107. Bedell SL, Goldstein LS, Goldstein AR, Goldstein AT. Cervical cancer screening: past, present, and future. *Sex Med Rev.* 2020;8(1):28–37.
108. Graham SV. The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clin Sci (Lond).* 2017;131(23):2201–21.

109. Lee SJ, Yang A, Wu T, et al. Immunotherapy for human papillomavirus-associated disease and cervical cancer: review of clinical and translational research. *J Gynecol Oncol.* 2016;27(5):e51.
110. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* 2013;382(9895):889–99.
111. Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol.* 2010;17(6):1471–4.
112. Benedet JL, Bender H, Jones H 3rd, Ngan HY, Pecorelli S. FIGO staging classifications and clinical practice guidelines in the management of gynecologic cancers. *Int J Gynaecol Obstet.* 2000;70(2):209–62.
113. Pecorelli S. Revised FIGO staging for carcinoma of the vulva, cervix, and endometrium. *Int J Gynaecol Obstet.* 2010;108(2 3):176–9.
114. Bhatla N, Berek JS, Cuello Fredes M, Denny LA, Grenman S, Karunaratne K, Kehoe ST, Konishi I, Olawaiye AB, Prat J, et al. Revised FIGO staging for carcinoma of the cervix uteri. *Int J Gynaecol Obstet.* 2019;145(1):129–35.
115. Kurman RJ, Carcangiu ML, Herrington CS. World Health Organization classification of tumours of the female reproductive organs. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2014.
116. Small W Jr, Bacon MA, Bajaj A, et al. Cervical cancer: a global health crisis. *Cancer.* 2017;123(15):2404–12.
117. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, et al. SEER cancer statistics review, 1975–2004. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 2007.
118. Chuang LT, Temin S, Camacho R, et al. Management and care of women with invasive cervical cancer: American Society of Clinical Oncology resource-stratified clinical practice guideline. *J Glob Oncol.* 2016;2(5):311–40.
119. Maoka T. Carotenoids as natural functional pigments. *J Nat Med.* 2020;74(1):1–16.
120. Britton G. Carotenoids. In: Hendry GAF, Houghton JD, editors. *Natural Food Colorants.* Boston, MA: Springer US; 1996. p. 197–243.

121. Lorenz RT, Cysewski GR. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends Biotechnol.* 2000;18(4):160–7.
122. Ambati RR, Moi PS, Ravi S, Aswathanarayana RG. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications – a review. *Mar Drugs.* 2014;12(1):128–52.
123. Johnson EA, An GH. Astaxanthin from microbial sources. *Crit Rev Biotechnol.* 1991;11(4):297–326.
124. Goodwin TW. Nature and distribution of carotenoids. *Food Chem.* 1980;5(1):3–13.
125. Rodriguez Concepcion M, Avalos J, Bonet ML, Boronat A, Gomez Gomez L, Hornero Mendez D, Limon MC, Meléndez Martínez AJ, Olmedilla Alonso B, Palou A, Ribot J, Rodrigo MJ, Zacarias L, Zhu C. A global perspective on carotenoids: metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Prog Lipid Res.* 2018;70:62–93.
126. Brotosudarmo THP, Limantara L, Setiyono E. Structures of astaxanthin and their consequences for therapeutic application. *Int J Food Sci.* 2020;2020: [article ID]. (If no page, use e loc).
127. Nishida Y, Berg PC, Shakersain B, Hecht K, Takikawa A, Tao R, Kakuta Y, Uragami C, Hashimoto H, Misawa N, et al. Astaxanthin: past, present, and future. *Mar Drugs.* 2023;21(12):514.
128. Miki W. Biological functions and activities of animal carotenoids. *Pure Appl Chem.* 1991;63(1):141–6.
129. Liu X, Osawa T. Cis astaxanthin and especially 9 cis astaxanthin exhibits a higher antioxidant activity in vitro compared to the all trans isomer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;357(1):187–93.
130. Shimidzu N, Goto M, Miki W. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fish Sci.* 1996;62(1):134–7.
131. Galasso C, Corinaldesi C, Sansone C. Carotenoids from marine organisms: biological functions and industrial applications. *Antioxidants.* 2017;6(4): [article ID or e loc].**

132. Chen Y-T, Kao C-J, Huang H-Y, Huang S-Y, Chen C-Y, Lin Y-S, Wen Z-H, Wang H-M-D. Astaxanthin reduces MMP expressions, suppresses cancer cell migrations, and triggers apoptotic caspases of in vitro and in vivo models in melanoma. *J Funct Foods*. 2017;31:20–31.
133. Kavitha K, Kowshik J, Kishore TKK, Baba AB, Nagini S. Astaxanthin inhibits NF- κ B and Wnt/ β -catenin signaling pathways via inactivation of Erk/MAPK and PI3K/Akt to induce intrinsic apoptosis in a hamster model of oral cancer. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2013;1830(11):4433–44.
134. Che H, Li Q, Zhang T, Wang D, Yang L, Xu J, Yanagita T, Xue C, Chang Y, Wang Y. Effects of astaxanthin and docosahexaenoic-acid-acylated astaxanthin on Alzheimer's disease in APP/PS1 double-transgenic mice. *J Agric Food Chem*. 2018;66(19):4948–58.
135. Park H-A, Hayden MM, Bannerman S, Jansen J, Crowe-White KM. Anti-apoptotic effects of carotenoids in neurodegeneration. *Molecules*. 2020;25(14):3453.
136. Iwamoto T, Hosoda K, Hirano R, Kurata H, Matsumoto A, Miki W, Kamiyama M, Itakura H, Yamamoto S, Kondo K. Inhibition of low-density lipoprotein oxidation by astaxanthin. *J Atheroscler Thromb*. 2000;7(4):216–22.
137. Fassett RG, Coombes JS. Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Mar Drugs*. 2011;9(4):447–65.
138. Guérin M, Huntley ME, Olaizola M. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. *Trends Biotechnol*. 2003;21(4):210–16.
139. Davinelli S, Nielsen ME, Scapagnini G. Astaxanthin in skin health, repair, and disease: a comprehensive review. *Nutrients*. 2018;10(4): [e-loc or page?].
140. Sannasimuthu A, Kumaresan V, Anilkumar S, Pasupuleti M, Ganesh MR, Mala K, Paray BA, Al-Sadoon MK, Albeshr MF, Arockiaraj J. Design and characterization of a novel *Arthrospira platensis* glutathione oxido-reductase-derived antioxidant peptide GM15 and its potent anti-cancer activity via caspase-9 mediated apoptosis in oral cancer cells. *Free Radic Biol Med*. 2019;135:198–209.

141. Lu Q, Li H, Zou Y, Liu H, Yang L. Astaxanthin as a microalgal metabolite for aquaculture: a review on the synthetic mechanisms, production techniques, and practical application. *Algal Res.* 2021;54:102178.
142. Rodriguez LG, Wu X, Guan J-L. Wound-healing assay. *Cell Migration: Developmental Methods and Protocols.* 2005:23–29.
143. Shaw LM. Tumor cell invasion assays. *Cell Migration: Developmental Methods and Protocols.* 2005:97–105.
144. O'Connor I, O'Brien N. Modulation of UVA light-induced oxidative stress by β -carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 1998;16(3):226–30.
145. Santocono M, Zurria M, Berrettini M, Fedeli D, Falcioni G. Influence of astaxanthin, zeaxanthin and lutein on DNA damage and repair in UVA-irradiated cells. *J Photochem Photobiol B.* 2006;85(3):205–15.
146. Hara K, Hamada C, Wakabayashi K, Kanda R, Kaneko K, Horikoshi S, Tomino Y, Suzuki Y. Scavenging of reactive oxygen species by astaxanthin inhibits epithelial-mesenchymal transition in high glucose-stimulated mesothelial cells. *PLoS One.* 2017;12(9):e018.
147. Yang Y, Yang I, Cao M, Z-Y S, Wu R, Guo Y, Fang M, Kong A-N. Fucoxanthin elicits epigenetic modifications, Nrf2 activation and blocking transformation in mouse skin JB6 P+ cells. *AAPS J.* 2018;20(2):32.
148. Ko JC, Chen JC, Wang TJ, Zheng HY, Chen WC, Chang PY, Lin YW. Astaxanthin down-regulates Rad51 expression via inactivation of AKT kinase to enhance mitomycin C-induced cytotoxicity in human non-small cell lung cancer cells. *Biochem Pharmacol.* 2016;105:91–100.
149. Gong X, Smith J, Swanson H, Rubin L. Carotenoid lutein selectively inhibits breast cancer cell growth and potentiates the effect of chemotherapeutic agents through ROS-mediated mechanisms. *Molecules.* 2018;23(4):905.

150. El-Baz FK, Hussein RA, Mahmoud K, Abdo SM. Cytotoxic activity of carotenoid rich fractions from *Haematococcus pluvialis* and *Dunaliella salina* microalgae and the identification of the phytoconstituents using LC-DAD/ESI-MS. *Phytother Res.* 2018;32(2):298–304.
151. Bharathiraja S, Manivasagan P, Bui NQ, Oh Y-O, Lim IG, Park S, Oh J. Cytotoxic induction and photoacoustic imaging of breast cancer cells using astaxanthin-reduced gold nanoparticles. *Nanomaterials (Basel).* 2016;6(4):78.
152. Jafari N, Nazeri S, Enferadi ST. Parthenolide reduces metastasis by inhibition of vimentin expression and induces apoptosis by suppression elongation factor α -1 expression. *Phytomedicine.* 2018;41:67–73.
153. McCall B, McPartland C, Moore R, Frank-Kamenetskii A, Booth B. Effects of astaxanthin on the proliferation and migration of breast cancer cells in vitro. *Antioxidants (Basel).* 2018;7(10):135.
154. Lu KW, Chen JC, Lai TY, Yang JS, Weng SW, Ma YS, Lu PJ, Weng JR, Chueh FS, Wood WG, et al. Gypenosides inhibits migration and invasion of human oral cancer SAS cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2-9 and urokinase-plasminogen by ERK1/2 and NF- κ B signaling pathways. *Hum Exp Toxicol.* 2011;30(5):406–15.
155. Kowshik J, Baba AB, Giri H, Deepak Reddy G, Dixit M, Nagini S. Astaxanthin inhibits JAK/STAT-3 signaling to abrogate cell proliferation, invasion and angiogenesis in a hamster model of oral cancer. *PLoS One.* 2014;9(2):e109114.
156. Kowshik J, Nivetha R, Ranjani S, Ahmed F, Elumalai P, Karthikeyan S, et al. Astaxanthin inhibits hallmarks of cancer by targeting the PI3K/NF- κ B/STAT3 signalling axis in oral squamous cell carcinoma models. *IUBMB Life.* 2019;71(10):1595–610.
157. Nagendraprabhu P, Sudhandiran G. Astaxanthin inhibits tumor invasion by decreasing extracellular matrix production and induces apoptosis in experimental rat colon carcinogenesis by modulating the expressions of ERK-2, NF κ B and COX-2. *Invest New Drugs.* 2011;29(2):207–24.
158. Protein Data Bank [Internet] Erişim tarihi [12.10.2024] <https://www.rcsb.org/structure/1CK7>

159. Protein Data Bank [İnternet] Erişim tarihi [12.10.2024] <https://www.rcsb.org/structure/1GKD>
160. Pubchem [İnternet] Erişim tarihi [12.10.2024]
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281224#section=3D-Conformer>



ÖZGEÇMİŞ

<u>Kişisel Bilgiler</u>	
Adı, Soyadı	Begüm EDİZ
Doğum Yeri	*****
Doğum Tarihi	*****
Uyruğu	T.C.
Telefon	*****
E-Posta Adresi	*****@gmail.com
Orcid Numarası	0009-0000-2792-7760
Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Fakülte	Fen Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Mezuniyet Yılı	2021
Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	
Makale ve Bildiriler	
Uluslararası Konferans ve Sempozyumlarda Sunulan Bildiriler	
“Investigation of The Cytotoxic Effect of Astaxanthine on Breast and Cervical Cancer” IX-International European Conference on Interdisciplinary Scientific Research January 19-21, 2024 / Valencia, Spain.	