



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



PİROKSİKAM'IN İNSAN PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE ANTİKANSER ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Cemile ŞAHİNER

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ**

**ANKARA
2020**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PİROKSİKAM'IN İNSAN PROSTAT KANSERİ
HÜCRELERİNDE ANTİKANSER ETKİNLİĞİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Cemile ŞAHİNER

**BİYOKİMYA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ**

**ANKARA
2020**

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Yüksek lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Piroksikam’ın İnsan Prostat Kanseri Hücrelerinde Antikanser Etkinliğinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımda yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımda yapılmış olup tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Cemile ŞAHİNER

Tarih: 16.12.2019

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Anabilim Dalında Cemile ŞAHİNER tarafından hazırlanan
“Piroksikam’ın İnsan Prostat Kanseri Hücrelerinde Antikanser Etkinliğinin
Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06.01.2020



Prof. Dr. Fügen AKTAN
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Aymelek GÖNENÇ
Gazi Üniversitesi
Jüri Üyesi



Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ
Ankara Üniversitesi
Jüri Üyesi

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Mehmet AKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	ix
Çizelgeler	xi
1.GİRİŞ	1
1.1. Kanser	2
1.2. Prostat Kanseri	3
1.2.1. Tanımı	3
1.2.2. Etiyolojisi	5
1.2.3. İnsidansı	6
1.3. İnflamasyon	6
1.4. İnflamasyon ve Kanser İlişkisi	12
1.5. Kanser Tedavisinde İnflamasyona Yönelme	17
1.6. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar	18
1.7. Kanser Tedavisinde Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaç Kullanımı	18
1.8. Piroksikam	19
1.8.1.Pirkosikam’ ın Yapısı	20
1.8.2. Etki mekanizması	21
2. GEREÇ ve YÖNTEM	24
2.1. Kullanılan Gereçler	24
2.1.1. Kullanılan Cihazlar	24
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
2.2. Hücre Kültürü	25
2.3. Hücre Canlılık Testi	26
2.4. Hücre Döngüsü Analizi	26
2.5. Annexin V Bağlanma Analizi	27
2.6. Total Kaspaz Düzeyinin Tayini	27
2.7. Mitokondriyal Membran Potansiyelinin Tayini	28
2.8. İstatistiksel Analiz	28
3. BULGULAR	29
3.1. Hücre Canlılık Testi	29
3.2. Hücre Döngüsü Analizi	31
3.3. Annexin V Bağlanma Analizi	35
3.4. Total Kaspaz Düzeyinin Tayini	41
3.5. Mitokondriyal Membran Potansiyelinin Tayini	45
4. TARTIŞMA	50
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	54
ÖZET	56
SUMMARY	57
KAYNAKLAR	58



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının konusunu; bir non steroidal antiinflamatuvar bileşik olan piroksikamın, insan prostat kanseri hücreleri üzerinde sitotoksik ve apoptozu indükleyici etkilerinin araştırılması oluşturmaktadır.

Yüksek lisans sürecimin birçok basamağında, maddi, manevi katkı ve desteklerini esirgemeyen; tez ve laboratuvar çalışmalarım sırasında büyük bir sabırla bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, beni aydınlatan, çalışmalarımda beni her zaman motive etmiş ve desteklemiş ve emeklerinin karşılığını asla ödeyemeyeceğim çok değerli, güler yüzlü hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Filiz BAKAR ATEŞ' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında benden yardımlarını esirgemeyen Ecz. Erva ÖZKAN ve Ecz. Nuri ÖZMEN' e ve bana rahat bir çalışma ortamı sağlayan Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanlığı' na teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerini her zaman arkamda hissettiğim aileme ve gerçek dostlarıma sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Varlığına her daim şükran duyduğum, sonsuz destekçim, can yoldaşım ve hayat arkadaşım müstakbel eşim Mehmet Murat KIŞLA' ya sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

7-AAD	7-Aminoaktinomisin
CAF	Kanser Aracılı Fibroblastlar
COX	Siklooksijenaz
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
FGF	Fibroblast Büyüme Faktörü
fPSA	Serbest PSA
HIF-1 α	Hipoksi-İndüklenebilir Faktör-1 α
IFN	İnterferon
IKK	İnhibitör Kappa B Kinaz
IL-1	İnterlökin-1
JAK1	JANUS Kinase
JNK	c-Jun NH ₂ - Terminal Kinase
MAPK	Mitojenle Etkileşen Protein Kinazlar
MMP	Matriks Metalloproteinazlar
MTT	3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür maddesi
NF κ B	Nükleer Faktör Kappa-B
NSAİ	Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar
PGG ₂	Prostaglandin G ₂
PGH ₂	Prostaglandin H ₂
PGHS	Prostaglandin Endoperoksit H Sentaz
PIA	Proliferatif İnflamatuvar Atrofi
PIN	Prostatik Epitel İçi Neoplasi
PSA	Prostat Spesifik Antijen
PSA-ACT	Antikimotripsine Bağlı PSA
PTGS1	Prostaglandin G/H sentaz-1
PTGS2	Prostaglandin G/H sentaz-2
RNT	Reaktif Nitrojen Türleri
RONs	Reaktif Oksijen ve Nitrojen Ajanları
ROS	Reaktif Oksijen Radikalleri

STAT1	Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü-1
TAM	Tümör İlişkili Makrofajlar
TGF- β	Dönüştürücü Büyüme Faktörü- β
TIL	Tümör İnfiltrate Edici Lenfositler
TLR	Toll-Like Reseptörleri
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör-A
TRAF	TNF Receptor Associated Factor
TXA ₂	Tromboksan A ₂
VEGF	Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü



ŞEKİLLER

Şekil 1.3.1. Araşidonik asit yolağından prostaglandinlerin oluşumu. NSAİ' lerin etki bölgeleri	10
Şekil 1.3.2. İnflamasyonun çözülüp dağılmasının başarılı olmaması sonucu kronik İnflamasyon için uygun ortam oluşması ve bu ortamda rol olan moleküller.	11
Şekil 1.4.1. Kanser başlaması ve gelişimi sırasında inflamatuvar araçlar arasındaki potensiyel çapraz ilişkinin şematik gösterimi.	15
Şekil 1.4.2. Karsinogenezde sitokinlerin rolünün şematik gösterimi.	16
Şekil 1.8.1.1. Piroksikamın kimyasal yapısı.	20
Şekil 1.8.2.1. Piroksikamın COX-1 ve COX-2 üzerine etkisinin şematik gösterimi.	22
Şekil 3.1.1. Piroksikamın 24 saat inkübasyon sonrası PC-3 hücre canlılığı üzerine etkisi.	30
Şekil 3.1.2. Piroksikamın 48 saat inkübasyon sonrası PC-3 hücre canlılığı üzerine etkisi.	30
Şekil 3.2.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde hücre döngüsü üzerine etkisi.	32
Şekil 3.2.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi kontrol grubu sonuçları.	33
Şekil 3.2.3. 25 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları.	33
Şekil 3.2.4. 50 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları.	34
Şekil 3.2.5. 100 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları.	34
Şekil 3.2.6. 250 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları	35
Şekil 3.3.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde apoptotik etkisi.	36
Şekil 3.3.2. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi kontrol grubu sonuçları.	37
Şekil 3.3.3. 25 µM piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi sonuçları.	38
Şekil 3.3.4. 50 µM piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi sonuçları. 40	39
Şekil 3.3.5. 100 µM piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi	40

sonuçları.	40
Şekil 3.3.6. 250 µM piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi sonuçları.	41
Şekil 3.4.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde kaspaz düzeyi üzerine etkisi.	42
Şekil 3.4.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi kontrol grubu sonuçları	43
Şekil 3.4.3. 25 µM Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları.	43
Şekil 3.4.4. 50 µM Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları.	44
Şekil 3.4.5. 100 µM Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları.	44
Şekil 3.4.6. 250 µM Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları.	45
Şekil 3.5.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etkisi.	46
Şekil 3.5.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etkisi kontrol grubu sonuçları.	47
Şekil 3.5.3. 25 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları.	48
Şekil 3.5.4. 50 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları.	48
Şekil 3.5.5. 100 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları.	49
Şekil 3.5.6. 250 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları.	49

ÇİZELGELER

Çizelge 3.1.1. Piroksikamın farklı konsantrasyonlarda 24 saat ve 48 saat inkübasyonun ardından PC-3 hücre canlılığı üzerine etkisi.	31
Çizelge 3.2.1. Piroksikam çözeltisinin 48 saat inkübasyonun ardından PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü üzerine etkisi.	32
Çizelge 3.3.1. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Annexin V testi sonuçları.	38
Çizelge 3.3.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Annexin V testi sonuçlarının kontrol grubuna kıyasla p değerleri.	38
Çizelge 3.4.1. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde total kaspaz düzeyine etkisi ve kontrol grubuna kıyasla p değerleri.	42
Çizelge 3.5.1. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları.	46
Çizelge 3.5.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları kontrol grubuna kıyasla p değerleri.	47

1. GİRİŞ

Kanser ve inflamasyon arasındaki ilişki uzun süredir bilinmektedir (Virchow, 1863) ve inflamasyon varlığı ile çeşitli pre-kanseröz lezyonların gelişimi arasında güçlü korelasyon olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin, prostatit nedeni ile prostat kanseri gelişim riskinde %14 (Rothman ve ark., 2004; Nelson ve ark., 2004; Rosenblatt ve ark., 2001), ülseratif kolit nedeni ile kolorektal kanser gelişimi riskinde %25 artış olduğu bildirilmiştir (Adelstein ve ark., 1979; Loftus, 2006). İnflamasyonun kanser gelişimine katkıda bulunduğuna dair örnekler mevcuttur. Enfeksiyon ajanlarının doğrudan kansere neden olabileceği çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir. Örneğin; feline leukaemia virüsün (Beatty, 2014) inflamasyon oluşumuna destek olduğu ve *Helicobacter pylori*'nin mukoza ilişkili lenfoma ya da gastrik karsinoma neden olduğu (De Falco ve ark., 2015) bildirilmiştir.

İnflamasyonda önemli yollardan olan araşidonik asit yolağını metabolize eden enzimler ve bunların ürünleri, inflamatuvar tepkiler, hücre çoğalması, hayatta kalma, anjiyogenez, invazyon ve karsinogenezi teşvik edebilen metastaz dahil olmak üzere çoklu hücresel süreçleri düzenlemektedir. Klinik çalışmalar, hayvan deneyleri ve hücre çalışmaları, araşidonik asit yolu aktivasyonunun inflamasyon ve tümör gelişiminde önemli rol oynadığına dair kanıtlar sunmaktadır (Wang ve Dubois, 2010; Cuendet ve Pezzuto, 2000; Yarla ve ark., 2015). Bu nedenle araşidonik asit yolağının inhibe edilmesi kemopreventif yöntemlerden biri olarak gösterilmiştir. Bu nedenle, nonsteroidal antiinflamatuvar etkili bazı moleküller kemopreventif etkileri açısından araştırılmıştır (Brandão ve ark., 2013; Smalley ve DuBois, 1997).

Kanser ve inflamasyon arasındaki ilişkiye dair araştırmalar devam etmekle birlikte günümüzde, çeşitli nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların (NSAİ) kanser gelişimini önlemeye ya da kanserin progresyonunu azaltmaya yardımcı olduğu konusunda in vivo ve in vitro çalışmalara ait veriler bulunmaktadır. İlerleyen araştırmalar, NSAİ'lerin kanser kemoprevensiyonuna potansiyel olarak

uygulandığını göstermiştir. Epidemiyolojik çalışmalar ile aspirin ve diğer NSAİ'lerin kullanımının kolorektal kanser riskini %40-50 azalttığı (Thun ve ark., 1991; Giovannucci ve ark., 1995) ve daha az oranda da meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiştir (Schreinemachers ve Everson, 1994; Harris ve ark., 1996).

1.1. Kanser

Pek çok kaynağa göre, hücrelerin kontrolden çıkmış bir biçimde çoğalarak sağlıklı hücrelerin fonksiyonlarını yerine getirmesine engel olması olarak tanımlanmaktadır. Kanser vücudun herhangi bir yerinde başlayabilmekte ve anormal olarak çoğalan bu kanser hücreleri, kan ve lenf sistemleri aracılığıyla taşınarak gittikleri dokuda yayılabilmektedir. Kanserler hastalık olarak bazı yönlerden birbirlerine benzeseler de büyüme ve yayılma profilleri ile birbirlerinden ayrılırlar. Kanser, anatomik ve moleküler olarak pek çok alt türe sahiptir (Ulusal Kanser Enstitüsü, 2015).

Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınlarına göre kanser global açıdan ikinci ölüm nedeni olarak önem arz etmektedir ve 2018 yılında kansere bağlı 96 milyon ölüm gerçekleştiği bildirilmiştir. Bu durum, her altı ölümden birinin kanserden kaynaklandığı gerçeğini gözler önüne sermektedir. Dünya genelinde en sık görülen kanserler şu şekilde sıralanmıştır: Akciğer (2.09 milyon vaka), meme (2.09 milyon vaka), kolorektal (1.80 milyon vaka), prostat (1.28 milyon vaka), cilt (1.04 milyon vaka), mide (1.03 milyon vaka). Bunlar arasında en çok ölüme neden olanlar akciğer ve kolorektal kanserlerdir (WHO, 2018). Ayrıca yine Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre, 2018 yılında 18.1 milyon olan kanser insidansının, 2040 yılında 29.5 milyona ulaşacağı öngörülmektedir.

Kanser ölümleri ağırlıklı olarak düşük ya da orta gelirli ülkelerde görülmektedir. Bu ölümlerin üçte biri beslenme ya da yaşam tarzı alışkanlıklarından kaynaklanmaktadır. Örneğin, tütün ürünleri kullanımı, yüksek vücut kitle indeksi, düşük sebze ve meyve ağırlıklı beslenme ve hareketsiz yaşam bunlar arasındadır.

Özellikle tütün ürünleri kullanımı kanser nedenleri arasında önce gelmekte ve ölümlerin %22'sini oluşturmaktadır. Prostat kanseri dünya genelinde erkeklerde en sık görülen ikinci kanser türü olmakla birlikte kanserden kaynaklı ölümlerde beşinci sırada gelmektedir (GBD 2015 Risk Faktörü Ortakları).

1.2. Prostat Kanseri

1.2.1. Tanımı

Prostat, glandula prostatica, mesane ve penis arasında, rektumun hemen önünde yer alan tepesi yuvarlak kestane biçimli bir bezdir. Çok sayıda salgı bezinin bir araya gelmesiyle oluşur. Üretra, mesaneden penise doğru prostatın ortasından geçerek ulaşır ve idrarın dışarı atılmasını sağlar. Prostat, spermi besleyen, koruyan, spermatozoitlerin hareketliliğini uyarıcı ve ersuyu plazmasının % 15 - 30 kadarını oluşturan berrak ve hafif asitli bir sıvı salgılamaktadır. Prostat salgısı enzimler bakımından zengin bir salgı olup, içeriğinde, albümin, madeni tuzlar, yağlar ve nişasta bulunmaktadır. Ejekülasyon sırasında bu sıvıyı üretraya sıkıştırır ve sperm ile birlikte atılır. Yaş ilerledikçe büyüklüğü değişkenlik gösterir. Ergenlik döneminde erişkinlik boyutuna ulaşan prostat, 50 yaş civarında küçülür ve salgıladığı madde miktarında azalma gözlenir. Orta yaşlardan sonra büyümeye devam etmesi idrar yapmayı zorlaştırır.

Prostat bezinde gelişen karsinomatoz lezyonlar, genel olarak prostat adenokarsinomudur. Prostat kanseri ilk evrelerinde asemptomatik olabilmektedir. En sık görülen ilk şikayetler, prostat hiperplazisinden kaynaklı oluşan idrar yapma zorluğu, artmış sıklık ve nokturi gibi semptomlardır. Erken evrelerinde Benign Prostat Hiperplazisinden ayırt edilmeleri çok zordur. Hastalığın ileri evrelerinde idrar retansiyonu ve kemik metastazına uygun bir bölge olduğu için sırt ağrıları görülebilmektedir. Prostat kanseri, hastalığın hala lokalize olduğu ya da lokal olarak ilerlediği bir noktada tespit edilirse tedavi edilebilir (Mottet ve ark.,2017). Uzun

asemptomatik erken evreye sahip olması nedeni ile, mortaliteyi azaltmak için erken teşhis yöntemleri geliştirilmiştir (Filella ve ark., 2018). Günümüzde kullanılan Prostat Spesifik Antijen (PSA) Testi erken teşhisin yapılabilmesine olanak tanıdığı için, dünya genelinde prostat kanseri vaka sayısında artışa neden olmuştur (Center ve ark., 2010). Bununla birlikte erken teşhisin yardımıyla prostat kanseri mortalitesinde mütevazı bir azalmanın gözlenmesine de aracı olmuştur (Schröder ve ark., 2014; Gershman ve ark., 2017). 2011 yılında, Orsted ve arkadaşları tarafından yayınlanan bir epidemiyolojik çalışmanın verileri, benign prostat hiperplazi tanısı konmuş erkeklerde prostat kanseri görülme riskinin arttığını bildirmektedir.

PSA, prostatik epitelyum ve periüretal glandlar tarafından üretilen, glikoprotein yapısında, 33 kDa ağırlığında bir serin proteazdır. Yarılanma ömrü 2-3 gündür. Seminal sıvıda çok yüksek konsantrasyonda (1×10^6 ng/mL) bulunur. PSA, 1980'li yılların sonlarında klinik kullanıma girmiş olup, günümüzde prostat kanserinin en önemli tümör belirleyicisidir. Bununla birlikte, PSA kansere spesifik değildir; çünkü, hem normal hiperplastik (benign prostat hiperplazisi) hem de malign prostat epitel hücrelerinde üretilmektedir (Stamey ve ark., 1989). Kanserli olmayan erkeklerde de PSA'nın yüksek olduğu tespit edilebildiğinden biyopsi ile doğrulama yapılması gerekmektedir.

PSA tek başına spesifik olmadığından seçiciliğini arttırmak amaçlı çeşitli parametreler üzerinde çalışılmıştır. PSA'nın serumda ölçülebilen iki farklı moleküler formu bulunmaktadır. Serbest PSA (fPSA), serumda ölçülebilen PSA'nın % 5-30'unu oluşturur. Yarılanma ömrü 2 saattir. Antikimotripsine bağlı PSA (PSA-ACT, kompleks-PSA) serumdaki PSA'nın % 60-95' ini oluşturmaktadır. fPSA/total PSA oranının azaldığı durumlarda prostat kanseri görülme olasılığının arttığı gösterilmiştir (Catalona ve ark., 1995).

PSA, tanının yanısıra, kanser tedavisinin izlenmesi amacı ile de kullanılmaktadır. Böylece nüksün erken tespiti mümkün olabilmektedir (Paryin ve ark., 1996).

1.2.2. Etiyolojisi

Prostat kanseri etiyojisi çok sayıda çalışmanın konusu olmuştur ve diğer yaygın kanserlere kıyasla tam olarak bilinmemektedir. İyi bilinen prostat kanseri risk faktörleri; ileri yaş, etnik köken, genetik faktörler ve aile öyküsüdür (Bostwick ve ark., 2004, Pienta ve ark., 1993). Prostat kanseri ile pozitif olarak ilişkili diğer faktörler arasında diyet (doymuş hayvansal yağ ve kırmızı et tüketiminin yüksek; meyve, sebze, vitamin ve kahve tüketiminin düşük olması), obezite ve fiziksel hareketsizlik, inflamasyon, hiperglisemi, enfeksiyonlar, kimyasallara ve iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma sayılabilir (Bostwick ve ark., 2004; Kolonel ve ark., 2001; Kolonel ve ark., 2004; Wolk ve ark., 2005; Wilson ve ark., 2012 ve Markozannes ve ark., 2016).

Diyetin, prostat kanserinin gelişmesinde nasıl esansiyel bir rol oynadığı ile ilgili olarak, gelişmekte olan ülkelerden, sanayinin gelişmiş olduğu ülkelere göç eden insanlar üzerinde yapılan çalışmalar, Batılı tarzı beslenme alışkanlığının, prostat kanseri insidansındaki artış ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur. Chu ve ark. (2011), Afrika ile karşılaştırıldığında, Amerika'da yaşayan Afrika kökenli Amerikalıların prostat kanseri insidansının 40 kat daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte Çin'de prostat kanseri insidansının Amerika'da yaşayan Çinlilere kıyasla 16 kat daha yüksek olduğu da gösterilmiştir (Hsing ve ark., 2000). Bu bulgular, prostat kanserinin görülmesinde çevresel faktörlerin büyük rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Yapılan araştırmalar, bazı hücrel mekanizmalar ve prostat kanseri gelişiminin ilişkili olduğunu bildirmektedir. Androjen sinyalizasyonu, lipid metabolizması sonucu artmış reaktif oksijen radikalleri düzeyi, artmış lökotrien ve prostaglandin seviyeleri, bazal metabolizmanın, insülin büyüme faktörünün ve tümör proliferasyon faktörünün artışı bu mekanizmalara örnektir (Fleshner ve ark., 2007; Hamalainen ve ark., 1984; Venkateswaran ve ark., 2010).

Mısır yağının, içeriğinde en çok bulunan linoleik asit ile kanser büyümesini teşvik edebileceği bildirilmiştir. Linoleik asitin metaboliti olan araşidonik asit, bazı proinflatuvar prostaglandinlerin oluşumunu arttırabilmektedir. Bunlar, hücre proliferasyonunu arttıran prostaglandin E2 ve malign prostat kanserinde ekspresyonunun arttığı tespit edilen 5-lipoksijenaz aktivitesi ile oluşturulan 5-hidroksieikotetraenoik asittir (Berquin ve ark., 2007).

1.2.3 İnsidansı

GLOBOCAN 2018 verilerine göre dünya genelinde erkeklerde akciğer kanserinden sonra ikinci en sık görülen kanserdir. 2018 yılı içinde 1.276.106 yeni prostat kanseri vakası rapor edilmiş ve 358.989 ölüme neden olmuştur. Bu verilere göre kanser kaynaklı ölümlerin %3.8'ini oluşturmaktadır (Bray ve ark., 2018; Ferlay ve ark., 2019).

Prostat kanserinin insidansı ve mortalitesi yaş artışı ile korele olarak ilerlemektedir (Ferlay ve ark., 2019). 50 yaş altındaki 350 erkekte sadece bir tanesine prostat kanseri teşhisi konulmakta iken (Perdana ve ark., 2003); 50 ile 59 yaşları arasındaki erkeklerde görülme oranı her 52 erkekte 1'e yükselmektedir. İnsidans oranı 65 yaş üstü erkeklerde %60'dır (Seer Cancer Statistics, 2018). Afrikan-Amerikan erkeklerde insidansın neredeyse iki katı kadar daha yüksek olduğu bildirilmiş olup, bu durumun, sosyal, çevresel ve genetik faktörlerden kaynaklanabileceği hipotezi öne sürülmüştür (Panigrahi ve ark., 2019).

1.3. İnflamasyon

İnflamasyon, travma ya da yaralanmalara karşı, yabancı organizmaları ya da molekülleri ortadan kaldıran, uzaklaştıran ya da nötralize eden ilkel bir tepkidir. İnflamasyon, endojen antiinflatuvar mekanizmaları kapsamakta olup, organizmayı aşırı doku hasarından korumakta, dokunun yapısının ve fonksiyonunun

onarılmasını desteklemektedir. Organizmanın bütünsel sağlığı ve hayatta kalışı, inflamatuvar mekanizmanın etkinliğine ve dengelenmiş kontrolüne bağlıdır. Doğuştan gelen inflamatuvar yanıt dakikalar içinde başlamaktadır (Lawrence ve Gilroy, 2007).

İnflamatuvar yanıt, yerleşik doku hücrelerinden pro- ve antiinflamatuvar mediyatörlerin salınımı ve lökositlerin kümelenmesini regüle eden çeşitli sinyal yollarının koordinasyonu ile karakterizedir. İnflamasyon sırasında, T lenfositler, monositler ve makrofajların yaralanma bölgesine gitmeleri için sinyal gönderen sitokinler salınmaktadır. Aktive edilmiş immün hücreler de, inflamatuvar sitokinler, kemokinler, hematopoietik sitokinler ve diğer büyüme faktörlerinin üretimini arttırmaktadır. Böylece çevrelerindeki pek çok sayıda hücreyi uyarak (fibroblast ve endotel hücreler) inflamatuvar sitokinlerin üretimini daha da arttırmaları. Bu ortamda, inflamatuvar sitokinlerin üretiminin artırılmasında iki temel yolak olan nükleer faktör kappa-B (NF κ B) ve JAK1/STAT1 (JANUS Kinase / Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatörü-1) yolları aktive edilmektedir (Mantovani, 2010; Mantovani ve ark., 2008; Levy ve Darnell, 2002).

Tümör nekroz faktör- α (TNF- α), zararlı uyaranlara maruz kalındıktan sonra makrofajlar tarafından üretilen ve diğer inflamatuvar tepkileri indükleyen bir sitokindir (Sutcliffe ve Pontari, 2016). TNF- α ve İnterlökin-1 (IL-1), doku hasarı ya da enfeksiyon sırasında hızlıca salınan prototip sitokinleri temsil etmektedir. TLR (Toll-like reseptörleri), ekstrasellüler alanda mikrobiyal moleküler yapıları tanıyan ve bu nedenle “yapı tanıma reseptörü” de denilen tip I transmembran proteinleridir. Aynı zamanda, inflamasyon ve antimikrobiyal savunmada rol alan genlerin transkripsiyonunu aktive eden farklı sinyal moleküllerini de uyarmaktadır. (Chai ve ark., 2015) .

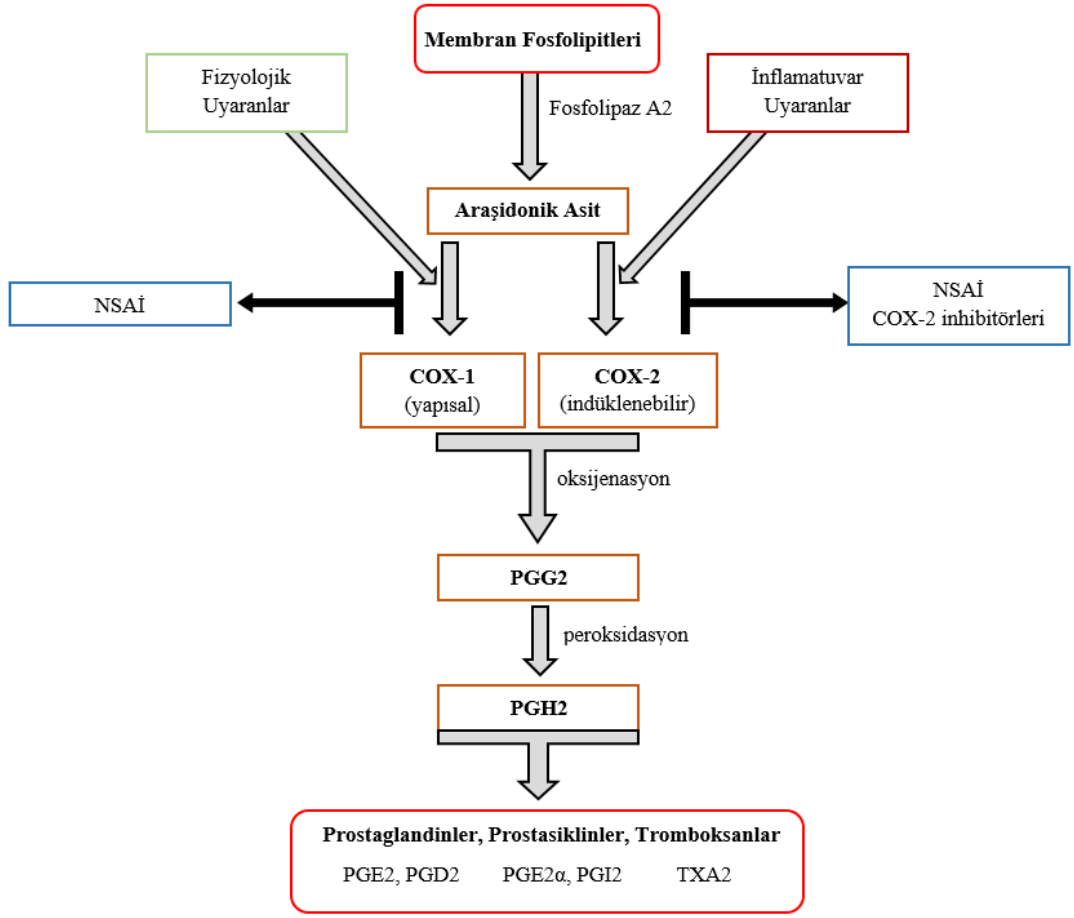
TLR’ ler birkaç ana yolağı aktive etmektedir. Bunlardan en önemlisi; c-Jun NH2- terminal kinase (JNK) (Karin ve Gallagher, 2005), p38 (Zarubin ve Han, 2005) ve inhibitör kappa B kinazları (IKK) (Ghosh ve Karin, 2002) içeren mitojenle

etkileşen protein kinazlardır (MAPK) (Chang ve Karin, 2001; Kyriakis ve Avruch, 2001). MAPK'lar direkt ya da indirekt olarak çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ve fosforilasyonuna öncülük etmektedir (Karin, 1995; Park ve ark. 2005). MAPK'lar aynı zamanda proinflamatuvar gen ekspresyonunu regüle etmektedir (Winzen ve ark., 2004). IKK' lar NFκB transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonundan sorumludur (Ghos ve Karin, 2002). NFκB inflamatuvar ve immün yanıtta önde gelen düzenleyici moleküldür (Li ve Verma 2002; Bonizzi ve Karin 2004). IKK ve MAPK yolları için hedef genler arasında inflamatuvar yanıtı güçlendirmek için ileri besleyici mekanizma oluşturan IL-1 ve TNF-α bulunur. Proinflamatuvar sitokinler olan IL-6, IL-12 ve tip I interferonlar (IFN) da IKK ve MAPK'lerin hedef genleri arasındadır (O'Shea ve ark., 2002).

Proinflamatuvar sinyal yolları, IL-10 gibi antiinflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonunu da indükleyecek kapasiteye sahiptir. Son çalışmalarda, pro- ve antiinflamatuvar sitokinleri aktive etmek için TLR'ler tarafından kullanılan sinyal yolunun, TRAF3 (TNF receptor associated factor 3) ve TRAF6 gibi adaptör proteinlerin seviyesine göre farklılaştığı gösterilmiştir. Örneğin; IL-10 ekspresyonu için kritik olan TRAF3 yokluğunda, TRAF-6 bağımlı proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve IL-12 dramatik olarak artış göstermektedir (Häcker ve ark., 2006). TRAF3 ve TRAF6 tarafından üretilen sinyaller, inflamatuvar yanıtın kontrolünde ve inflamasyonun uygun şekilde dağılıp sonlanmasında önemli bir rol oynamaktadır (Lawrence ve Gilroy, 2007).

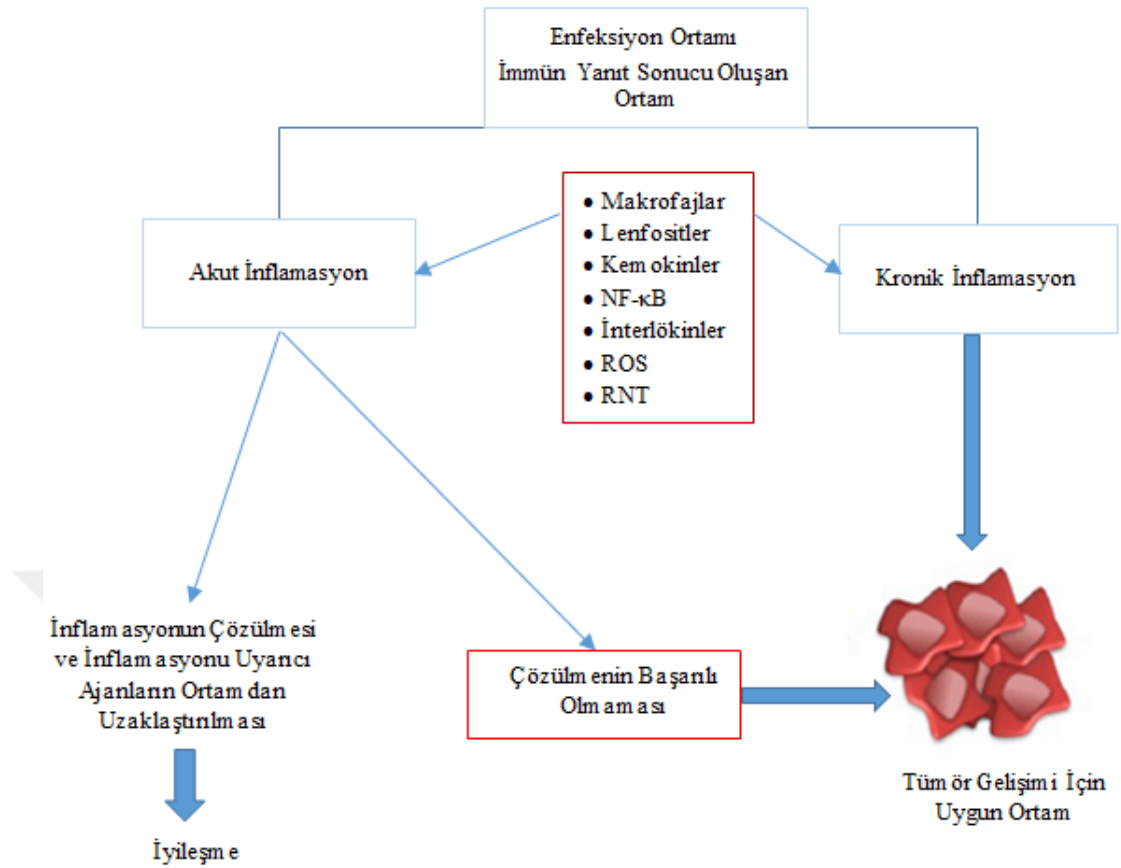
İnflamasyona neden olan uyaranlar, araşidonik asitten siklooksijenaz (COX) enzimi aracılığı ile prostasiklin ve prostaglandin sentezini artırır. Siklooksijenazlar, araşidonik asit yolundan türetilen prostaglandinlerin sentezinde yer alan enzimlerdir. Farklı genler tarafından sentezlenen COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu olduğu gösterilmiştir (Meade ve ark., 1993; DeWitt ve ark., 1993). Her iki enzim de hücrelerde membranlara yerleşmiştir. Membranda çeşitli faktörlerin etkisiyle fosfolipidlerden koparılan araşidonik asidi metabolize ederler. COX-1 yapısal bir protein olup, birçok dokuda bulunmakta ve normal doku homeostazının korunmasında rol oynayan prostaglandinleri sentezlemektedir (Smith

ve ark.,1996). COX-2 ise bir çeşit reaktif proteindir ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücreler tarafından eksprese edilmektedir. COX-2, inflamasyon bölgelerinde üretilen prostaglandinlerden sorumludur ve TNF ve epidermal büyüme faktörü (EGF) gibi büyüme faktörleri, sitokinler ve çeşitli karsinojenler tarafından indüklenmektedir (Taketo, 1998, Williams ve ark., 1999) Üretildiği hücrelerde, sentezini stimüle eden bir uyarı olmadığında sentezi durakladığı için COX-2 uyarılabilen bir enzimdir. COX-2, ayrıca, apoptozis (Ding ve ark., 2000; Li ve ark., 2001), invazivlik (Sheng ve ark., 2001), adezyon (Chen ve ark., 2001) ve anjiyogenezis (Masferrer ve ark., 2000) gibi karsinogenezis mekanizmaları ile ilişkilidir. COX-2 aktivitesi ile oluşan prostaglandinler, eikosanoidler olarak bilinen bir grup 20-karbonlu lipit bileşiği grubuna aittir. Prostaglandinler, vücutta pek çok fizyolojik fonksiyon ile ilişkili şekilde yaygın olarak bulunan inflamasyon araçlarıdır. Prostaglandin sentezi, araşidonik asit üreten membran fosfolipidleri üzerindeki fosfolipaz A₂'nin enzimatik etkisi ile başlar. Araşidonik asit daha sonra iki adımda COX-2 ile prostaglandinlere metabolize edilir. İlk önce, bir dioksijenaz aktivitesi ile prostaglandin G₂ (PGG₂), daha sonra bir peroksidaz aktivitesi ile prostaglandin H₂ (PGH₂) oluşur. Öte yandan, dokuya özgü sentezler, PGH₂' den, PGE₂, PGD₂, PGF_{2a}, PGI₂ ve tromboksan A₂ (TXA₂) ' nin sentezlenmesine yardımcı olur (Şekil 1.3.1.).



Şekil 1.3.1. Araşidonik asit yolağından prostaglandinlerin oluşumu. NSAİ' lerin etki bölgeleri (Hussain ve ark., 2003).

Genellikle tehdit edici unsurlar uzaklaştırıldığında, akut inflamasyon, hızlı bir şekilde çözülür. Çözülme başarısız olduğunda ise kaçınılmaz olarak kontrolsüz inflamatuvar reaksiyonlara yol açan aşırı sitokin, kemokin ve büyüme faktörleri üretimi nedeni ile kronik bir inflamasyon durumu ortaya çıkar (Sethi ve ark., 2012) (Şekil 1.3.2.). Coussens ve Werb (2002)'e göre inflamasyonun kanser başlatabileceği mekanizmalar olmakla birlikte genellikle akut inflamasyondan kronik inflamasyona bir geçiş gerekmektedir.



Şekil 1.3.2. İnflamasyonun çözülüp dağılmasının başarılı olmaması sonucu kronik inflamasyon için uygun ortam oluşması ve bu ortamda rol olan moleküller (Raposo ve ark.,2015).

COX-2 aracılığı ile oluşan PGD_2 , akut inflamasyonun çözülmesinde rol oynamaktadır (Gilroy ve ark., 1999). Bunun yanında NFκB kompleksleri de lökosit apoptozisini indükleyerek akut inflamasyonun çözülmesinde rol oynamaktadır. (Lawrance ve ark., 2001; Gilroy ve ark., 2003). Kronik inflamasyondan kansere geçiş, NF-κB ve IL-6'yı içeren hem inflamasyon, hem de kanserle ilişkili çok yönlü moleküller aracılığı ile olmaktadır (Coussens ve Werb, 2002).

1.4. İnflamasyon ve Kanser İlişkisi

Kronik inflamasyon ve kanser arasındaki ilişki ilk olarak 1863'te Virchow tarafından ortaya atılmıştır. Kronik inflamasyon bölgelerinin kanserin kökeni olduğunu ve doku tahribatının ve bazı tahriş edici maddelerin neden olduğu inflamasyonun hücre çoğalmasını teşvik ettiği gösterilmiştir (Virchow, 1863).

Kronik yaraların neoplastik gelişme için risk faktörü olduğu 1993 yılında Baldursson ve ark. tarafından gösterilmiştir. Araştırmacılar, inflamasyon, fibroplazi ve anjiyogenezin yara onarımı ile yakından bağlantılı temel olaylar olduğunu, bu nedenle iyileşmeyen yaranın kronik inflamatuvar mikro ortamının malign transformasyon için risk faktörü olabileceğini bildirmişlerdir.

Tümör hücrelerinin mikroçevresi, özellikle tümör stroması, tümör hücreleri ve etrafındaki dokular arasındaki dinamik etkileşimler aracılığı ile neoplastik ilerlemenin kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. (Bissell ve Radisky, 2001). Tümör stromasındaki, fibroplazi ve anjiyogenez ile yakından bağlantılı olan inflamatuvar yanıtın karsinogenezde kritik bir rol oynadığı düşünülmektedir. (Balkwill ve Mantovani, 2001; Coussens ve Werb, 2002).

İnflamatuvar hücreler tarafından reaktif oksijen radikalleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) oluşturulmaktadır. Bu ajanlar, hücrelerdeki mutasyon oranını ve genomik instabiliteyi arttırmakta ve DNA hasarını indüklemektedir (Waris ve Ahsan, 2006). Pozitif bir feedback döngüsünde DNA hasarı, tümör oluşumunu destekleyen bir inflamasyona da neden olabilmektedir (Ohnishi ve ark., 2013). Apoptoz, hücre çoğalması ve anjiyogenezdeki birçok moleküler hedef ve sinyal yolu hem iltihaplanma hem de kanserojenizde yaygındır. Kronik inflamasyon sırasında bu sinyal yollarının düzensizliği, sıklıkla malign transformasyonda rol oynayan proinflamatuvar genlerin anormal ekspresyonuna yol açar (Landskron ve ark., 2014).

Tümör gelişimi sırasında pek çok sitokin, tümör mikroçevresine bağlı olarak iki yönlü etki gösterebilmektedir. Antitümör etki gösteren bazı sitokinlerin, kronik inflamasyon sırasında hücre transformasyonu ve maligniteyi indükleyebildikleri gösterilmiştir (Zamarron ve Chen, 2011). Kronik inflamasyon bölgelerinde üretilen kemokinler, sitokinler ve büyüme faktörlerinin de, DNA hasarını ve kromozomal instabiliteyi indükleyerek, konakçıda kansere neden olabileceği bildirilmiştir (Sethi ve ark., 2012). İnflamasyon ve kanser arasındaki bağlantı için intrinsik ve ekstrinsik yolak olmak üzere iki farklı paradigma söz konusudur (Kundu ve Surh, 2012). İntrinsik yolakta, DNA hasarı, kromozomal instabilite ve epigenetik değişiklikler, uygunsuz gen ekspresyonuna yol açmaktadır. Ekstrinsik yolak ise, enfeksiyonlardan gelen inflamatuvar sinyaller ve otoimmün hastalıklar gibi kanser gelişimini destekleyen inflamatuvar koşulları kapsamaktadır. Bu iki yolak, lökositleri tümör mikroçevresine toplayan transkripsiyon faktörleri (örn. NF- κ B), sitokinler (örn. TNF- α) ve kemokinler (örn. IL-8) tarafından bir araya getirilmiştir (Sica ve ark., 2008; Ang ve Tergaonkar, 2007). Bu pro-inflamatuvar kaskadlar, hücre proliferasyonu, apoptotik kaçınma, invazyon, metastaz ve anjiyogenez gibi kanser belirtilerini oluşturmaktadır (Chai ve ark., 2015).

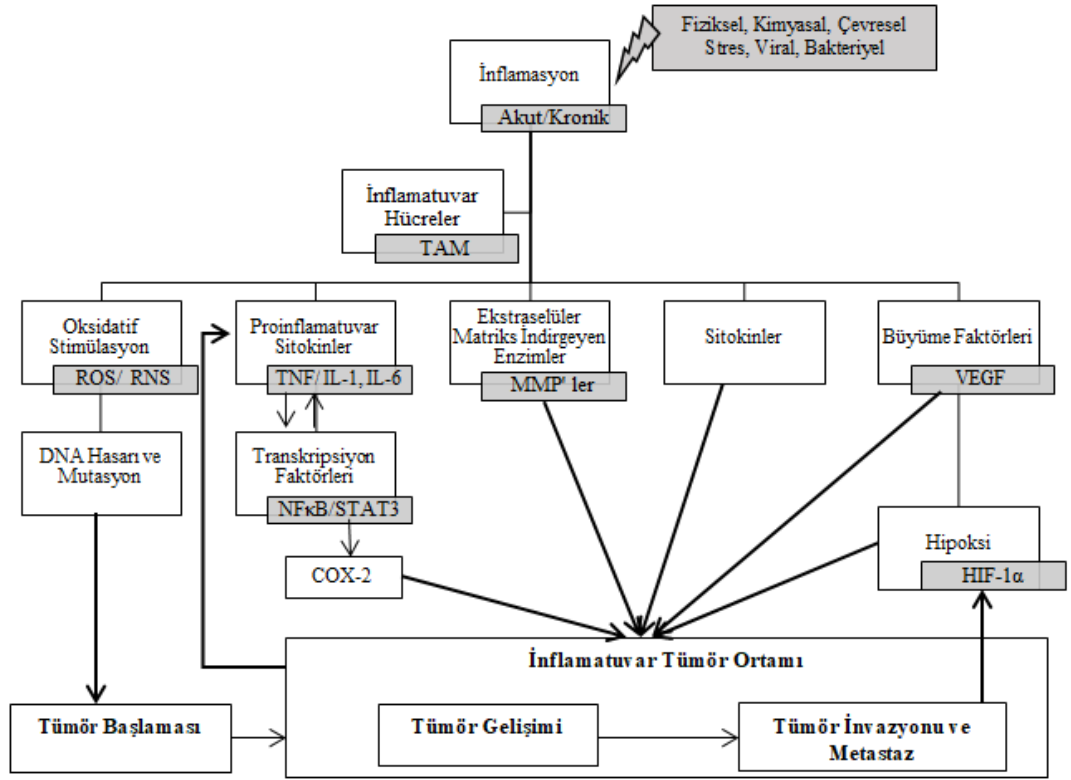
Kronik inflamasyon sırasında, sayısız hücre içi sinyal yolunun regülasyonu bozulmaktadır. Örneğin; JAK ve MAPK gibi kinazların inflamasyon odaklı de-regülasyonu. Ayrıca, STAT3, NF- κ B ve HIF-1 α (hipoksi-indüklenbilir faktör-1 α) gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerinin inflamasyonla indüklenen anormal aktivasyonunun sıklıkla onkojenezde rol oynadığı belirtilmiştir (Sethi ve ark., 2012; Kundu ve Surh, 2012; Ang ve Tergaonkar, 2007). Transkripsiyon faktörlerinin anormal aktivasyonu ile kinazların de-regülasyonu, onkojenik geçişin meydana gelmesinde önemli bir rol oynayan çok sayıda inflamatuvar mediyatörün aşırı ekspresyonuna yol açmaktadır.

İnflamasyonun %60 oranında prostat kanseri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Gerstenbluth ve ark., 2002). İnflamasyonu prostat kanseri ile bağlayan lezyona “Proliferatif İnflamatuvar Atrofi (PIA)” denilmektedir. Prostatik atrofının çoğu bölgesi stabil olsa da, inflamasyonun yakınındaki atrofi alanlarının proliferatif

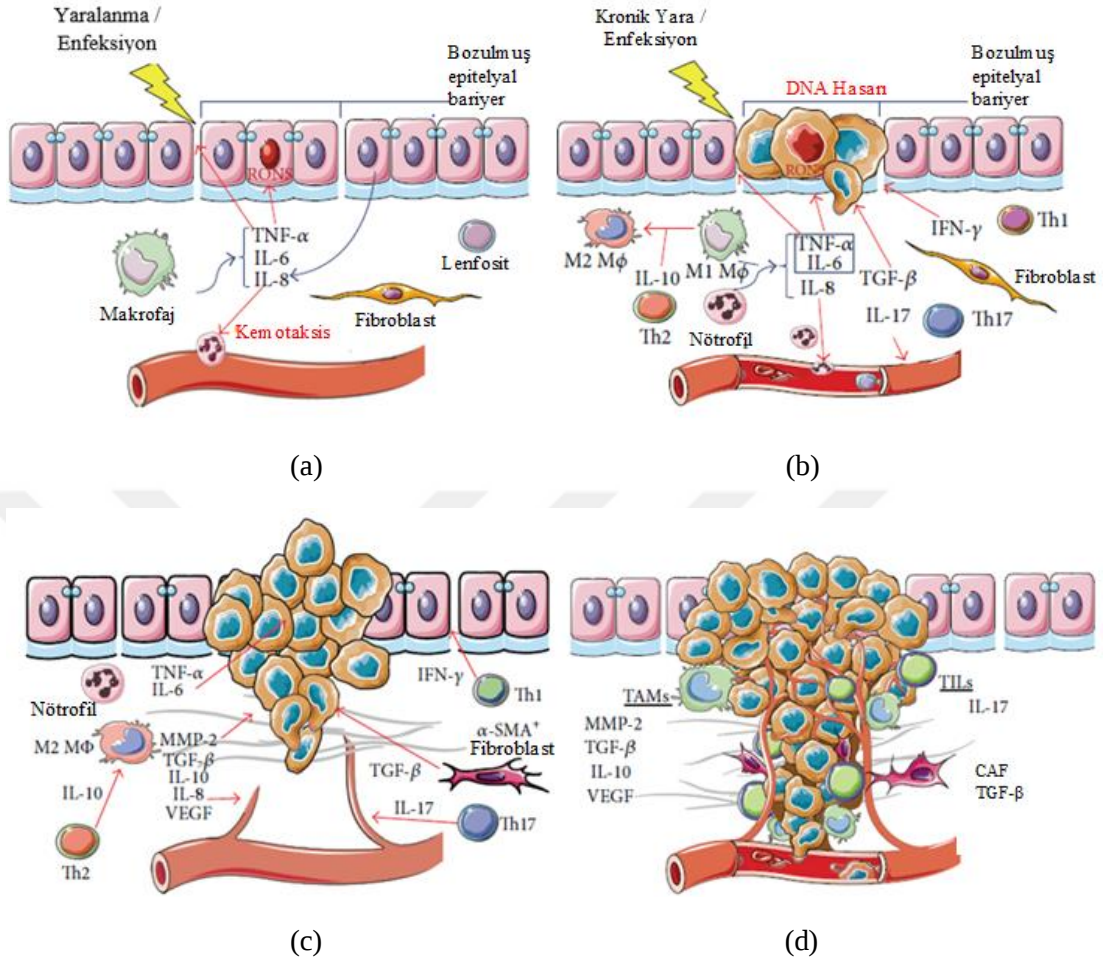
olduğu tespit edilmiştir. PIA olarak adlandırılan bu alanların, doğrudan ya da dolaylı olarak prostatik epitel içi neoplasiye (PIN) ilerleyerek prostat kanserinin habercisi olduğu öne sürülmüştür (Davidsson ve ark., 2011; Platz ve De Marzo, 2004). Morfolojik çalışmalar PIA'dan PIN'e ve PIA'dan kansere geçişi raporlamıştır (Wang ve ark., 2009). PIA lezyonlarında bulunan bazı biyokimyasal değişiklikler aynı zamanda PIN ve prostat kanserinde de bulunmuştur (De Marzo ve ark., 2007). Çeşitli sitokin ve inflamatuvar mediyatörlerin prostat kanserinin gelişiminde rol oynadığı gösterilmiştir. TNF- α , reaktif radikaller, COX-2, vasküler endoteliyal büyüme faktörü (VEGF) bunlar arasındadır (Balkwill ve Mantovani, 2001). Normal veya hiperplastik prostat ile kıyaslandığında, COX-2' nin prostat kanseri ve PIN'de aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir (Pruthi ve ark., 2003; Aparicio ve ark., 2007). In vitro COX-2 inhibitörlerinin prostat kanseri büyümesini inhibe ettiği ve prostat kanseri hücre hatlarında apoptozu arttırdığı gösterilmiştir (Kirschenbaum ve ark., 2001).

COX-2 'nin prostat kanseri gelişimi ve ilerlemesinde rol oynayabileceği çok sayıda mekanizma bulunmaktadır (Kirschenbaum ve ark., 2001). Bu mekanizmaların sayısının, prostaglandin sentezinde COX-2' nin neden olduğu bir artıştan kaynaklanması muhtemeldir. Artan prostaglandin sentezinin hem büyümeyi desteklediğine, hem de prostat kanserinde olumlu feedback etkilerine dair kanıtlar bulunmuştur. Prostat kanseri hücreleri PC-3' ün ekzojen PGE₂ ile tedavisinin artmış mitogenez ve COX-2 up-regülasyonu ile sonuçlandığı gösterilmiştir (Tjandrawinata ve ark., 1997).

Ayrıca, PC-3 hücrelerinin ekzojen PGE₂ varlığında flurbiprofen ile tedavisinin COX-2 mRNA'nın upregülasyonunu ve hücre büyümesini inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır (Tjandrawinata ve ark., 1997). Başka bir çalışma, PGE₂'nin IL-6 / GP130 sinyal dönüştürücülerin ve STAT-3 sinyal yolu uyarıcılarının aktivasyonu yolu ile prostatik epitel içi neoplazi hücresi büyümesini uyardığı gösterilmiştir (Liu ve ark., 2002). Bu çalışma, artan COX-2 / PGE₂ ekspresyonunun, IL-6 sinyal yolunun aktivasyonu aracılığı ile prostat kanseri gelişimine ve ilerlemesine katkıda bulunduğuna dair önemli kanıtlar sunmaktadır.



Şekil 1.4.1. Kanser başlaması ve gelişimi sırasında inflamatuvar araçlar arasındaki potensiyel çapraz ilişkinin şematik gösterimi. Strese ya da enfeksiyona bağlı inflamasyon kronik hale geldiğinde, Tümör İlişkili Makrofajların (TAM) inflamatuvar durumunu devam ettirebilir. Kontrolsüz bir şekilde oksidatif uyarıcılar, proinflamatuvar sitokinler, matriks metalloproteinazlar (MMP), kemokinler ve büyüme faktörlerinin üretimi, kanserin hem başlatılmasına, hem de ilerlemesine neden olabilir (Chai ve ark., 2015).



Şekil 1.4.2. Karsinogenezde sitokinlerin rolünün şematik gösterimi. (a) Doku hasarı ya da enfeksiyon sırasında immün yanıt, TNF- α , IL-6, IL-8 gibi proinflamatuvar araçların makrofajlardan ve nötrofillerden salınımını aktive eder. Bu sitokinler epitelyal bariyeri parçalar Reaktif Oksijen ve Nitrojen Ajanlarını (RONS) indükler ve diğer inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu destekler. (b) Kronik inflamasyon sırasında, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinler, RONS aracılığıyla DNA hasarını indüklerler. Bu da tümörün başlamasına öncülük eder. Dönüştürücü büyüme faktörü- β (Transforming Growth Factor- β) (TGF- β), epitelyal-mezankimal geçişin aktivasyonu yoluyla malign transformasyonu destekler. Lenfositlerden türetilen IFN- γ , IL-10 ve IL-17 gibi sitokin türevleri sırası ile epitelyal bariyerin bozulması, makrofajların M2 fenotipik geçişi ve anjiyogeneze katılabilirler. (c) tümör büyümesi ve invazyon da proinflamatuvar sitokinler tarafından desteklenir. Hücre proliferasyonunu stimüle ederler, apoptozu redüklerler, epitelyal-mezankimal geçiş ve anjiyogenezi geliştirirler. Anjiyogenez VEGF ve IL-8 ile kolaylaştırılır. Anti-inflamatuvar sitokinler olan IL-10 ve TGF- β ise tümörün immün kaçınmasına katkıda bulunur. (d) TAM, tümör infiltrate edici lenfositler (TIL) ve kanser aracılı fibroblastlar (CAF), immün baskılayıcı ortamı korurken, tümör büyümesine ve metastazına katkıda bulunan çeşitli faktörler salgırlar (Landskron ve ark., 2014).

1.5. Kanser Tedavisinde İnflamasyona Yönelme

Kansere bağlı inflamasyon gelişimi ile mücadelede keşfedilen bazı hedefler arasında COX, NF-kB, sitokinler / kemokinler ve reseptörleri, fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve reseptörü ile VEGF bulunmaktadır (Rayburn ve ark., 2009).

Son birkaç on yılda COX'un pankreas (Molina ve ark., 1999), prostat (Kamijo ve ark., 2001), rahim ağzı (Kulkarni, 2001), meme, akciğer ve kolon (Soslow ve ark., 2000) kanseri gibi çeşitli kanserlerde aşırı eksprese edildiğine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. COX'un aşırı ekspresyonunun, yayılma ve metastazda anahtar bir adım olan anjiyogenezi uyardığı bulunmuştur (Leahy ve ark., 2002). Bir başka çalışmada da COX'un aşırı ekspresyonunun kanser hücrelerinin apoptoza karşı direncini artırarak kanser öncülü olduğu bildirilmiştir (Tsuji ve Dubois, 1995). PGE₂'nin kanser hücrelerinde arttığı, kanser hücresi proliferasyonunu ve metastazını uyarabildiği gösterilmiştir (Roberts ve ark., 2011). COX-2/PGE₂ sinyal yolunun kolorektal tümör gelişiminde de önemli rol oynadığı bildirilmiştir. Araştırmalar, COX-2 ve PGE₂'nin ekspresyonundaki bir artışın, özellikle glukozdan yoksun bir tümör mikroçevresinde, kolorektal kanser hücresi sağ kalımını desteklediğini göstermektedir (Roberts ve ark., 2011). PGE₂ gibi COX aktivitesine bağlı ürünlerin tümör gelişiminde rol oynadığının gösterilmesi sonucu, kanser tedavisinde COX inhibisyonunun iyi bir strateji olabileceği öngörülmektedir.

1.6. Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar

NSAİ' ler, dünya çapında en yaygın reçete edilen ilaçlar arasındadır. Antipiretik, analjezik ve anti-inflamatuvar özellikleri nedeni ile ateş, ağrı ve enflamasyonda kullanılan bir grup bileşikten oluşmaktadır (Taketo, 1998). Klinik olarak, menstrüel ve postoperatif ağrıdan artritik ağrıya kadar birçok durumda ağrının giderilmesinde kullanılmaktadır. Bu ilaçlar iyi bilinen antiinflamatuvar ajanlardır ve etkilerini COX enzimini bloke ederek prostaglandin sentezinin inhibisyonu yolu ile uygularlar (Smith ve ark., 2000). Bu ilaçların kimyasal olarak benzerlikleri fazla olmasa da COX ya da prostaglandin endoperoksit H sentaz (PGHS) enzimlerini bloke etme yetenekleri bulunmaktadır.

1.7. Kanser Tedavisinde Nonsteroidal Antiinflamatuvar Kullanımı

Araştırmalar, birçok kanserin inflamasyon ile bağlantılı olduğunu gösterdiğinden en yaygın kullanılan antiinflamatuvar ilaçlardan olan NSAİ'lere yönelim, öngörülebilir bir gerçektir (S. Rakoff-Nahoum, 2006).

Bu ilaçların kanser kemoprevensiyonundaki önemi, düzenli olarak aspirin veya diğer NSAİ' leri kullanan kişilerde, özellikle kolorektal ve meme gibi bazı kanserlerin azalmış riskini gösteren birçok epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarla desteklenmiştir (Moran, 2002; Xu, 2002). Düzenli olarak aspirin verildikten sonra prostat kanseri riskinin azalması yönünde bir eğilim olduğu bildirilmiştir (Norrish ve ark., 1998). Nelson ve Harris (2000) ayrıca günlük ibuprofen ya da aspirin uygulamasının, prostat kanseri riskinde %66'lık bir azalma ile korele olduğunu göstermiştir. Bir diğer çalışmada, NSAİ tüketen 60 yaş üstü beyaz erkeklerde, bu yaştaki genel popülasyona kıyasla prostat kanseri insidansının daha düşük olduğu bildirilmiştir (Roberts ve ark., 2002).

NSAİ'lerin antiinflamatuvar özelliklerinin yanısıra; apoptozu indükleme, anjiyogenezi inhibe etme ve hücrel immün yanıtları artırma gibi antikanser etkilerinde rol oynayabilecek bazı olası mekanizmalar bulunmaktadır (Thun ve ark., 2002).

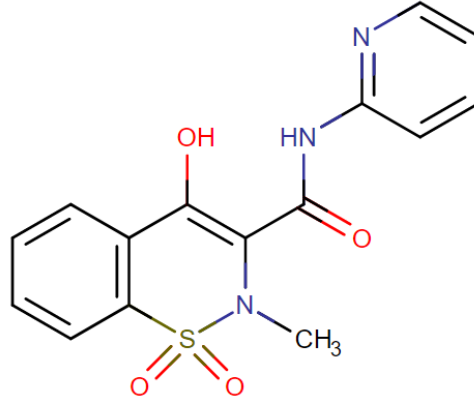
PGE₂ gibi bazı eikosanoidlerin (Bennett ve ark., 1975) ve COX-2 düzeylerinin çeşitli tümör dokularında yükselmiş olduğu (Oshima ve ark., 1996) ve tümör hücresinin çoğalmasını uyarabildiğinin (Qiao ve ark., 1995) çalışmalarda ortaya konulmuş olması, COX-2'nin önemli bir hedef olmasına yol açmıştır. NSAİ'lerin kullanılmasının başlıca nedeni COX inhibisyonu olmasına rağmen, farklı birçok çalışma da bu ilaçların kemopreventif etkilerinin COX bağımsız mekanizmalarla gerçekleşebileceğine dair kanıtlar ortaya koymaktadır. Örneğin, in vitro çalışmalar NSAİ'lerin COX-1 ya da COX-2 ekspresyonundan bağımsız olarak, farklı kökenlere sahip çoklu tümör hücre hatlarında proliferasyonu önlediğini ve/veya apoptozu indüklediğini göstermiştir (Vogt ve ark., 2001). Ayrıca, NSAİ'lerin tümör büyümesini inhibe edici etkisinin prostaglandin ilavesi ile tersine çevrilemediği gösterilmiştir. (Hanif ve ark. 1996).

1.8. Piroksikam

Romatoid artrit ve osteoartrit tedavisinde kullanımı iyice yerleşmiş olmakla birlikte kas ve iskelet sistemi rahatsızlıkları, dismenore ve ameliyat sonrası ağrı tedavisinde kullanılan COX inhibitörü nonsteroidal antiinflamatuvar bir ilaçtır.

Piroksikam mevcut durumda ülkemizde 11 adet beşeri tıbbi üründe kullanılmakta olup, bunlar intramüsküler enjektabl ampul, topikal jel, kapsül, tablet ve suppozituar farmasötik formlara sahiptir.

1.8.1. Piroksikam' ın Yapısı



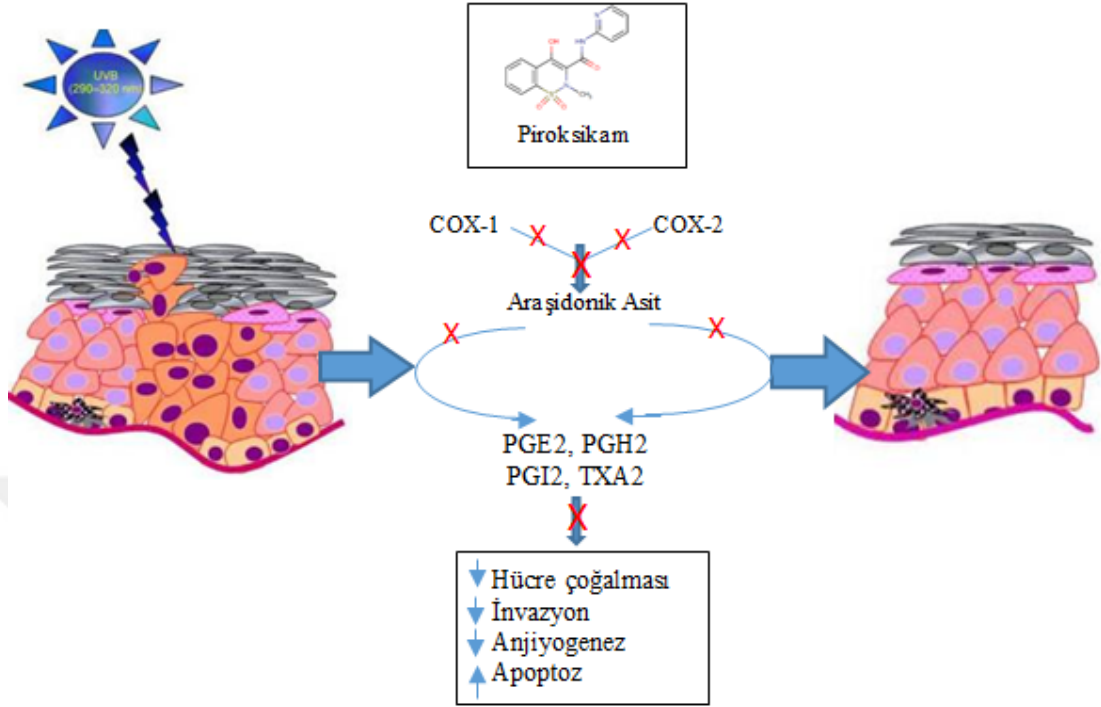
Şekil 1.8.1.1. Piroksikamın kimyasal yapısı (4-Hidroksi -2-metil-N-(2-piridil)-2H-1,2-benzotiyazin-3-karboksamit-1,1-dioksit, Molekül ağırlığı: 331,4) (Wishart ve ark., 2017).

Fiziksel olarak, beyazdan açık sarıya değişen renkte, kokusuz, kristal yapılı bir tozdur. İngiliz Farmakopesine göre pratik olarak suda çözünmez, alkolde çok az, metilen klorürde iyi çözünür. 15-30 °C'de hava geçirmeyen kapalı kaplarda saklanmalı ve ışıktan korunmalıdır.

1.8.2. Etki mekanizması

Enolik bir benzotiyazin olan piroksikamın, COX-1 ve COX-2 sentezini inhibe ettiği, prostaglandin ve tromboksan üretimini azalttığı, poliamin üretimini önlediği ve tümör gelişiminde en göze çarpan proteinaz aliesi üyesi olan MMP ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir (Şekil 1.8.2.1) (Campiono ve ark., 2015; Jetter ve ark, 2018).

Piroksikamın antiinflamatuvar etkisi COX'u geri dönüşümlü olarak inhibe etmesinden ileri gelmekte olup, bu durumda, prostaglandin sentezinin periferik inhibisyonuna neden olmaktadır. Piroksikamın analjezik etkisinin, prostaglandinlerin sentezini inhibe etmesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Prostaglandinler COX-1 enzimleri tarafından üretilmektedir. Piroksikamın COX-1 enzimini inhibe etmesi nedeni ile PG sentezlenemez. Piroksikam aynı zamanda lökotrienlerin inflamasyon bölgesine göçünü inhibe etmekte ve tromboksan A₂'nin, plateletler aracılığı ile oluşumunu önlemektedir. Genel fonksiyonu prostaglandin-endoperoksidaz aktivitesi olan Prostaglandin G/H sentaz-1 (PTGS1) ve Prostaglandin G/H sentaz-2 (PTGS2) yi de inhibe etmektedir (Wishart ve ark., 2017).



Şekil 1.8.2.1. Piroksikamın COX-1 ve COX-2 üzerine etkisinin şematik gösterimi. Piroksikam, prostaglandin (PGH₂, PGE₂, PGI₂ ve TXA₂) biyosentezinin down regülasyonu ve up regüle edilmiş 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenaz inhibisyonu ile COX-1 ve COX-2 aktivitesini inhibe eder (Elena ve ark., 2015).

PTGS1/2, prostanoidlerin sentezinde kararlı bir adım olan araşidonatı PGH₂'ye dönüştürmektedir. PGH₂, özellikle mide ve plateletlerde prostanoidlerin üretiminde rol oynamakta olup, gastrik epitel hücrelerdeki hücresel korumada önemli bir role sahip olan PGE₂ gibi prostaglandinlerin üretilmesinde önemli bir ara basamaktır.

PTGS2, fizyolojik şartlarda, endotel, böbrek ve beyin gibi bazı dokularda ve kanser gibi patolojik koşullarda eksprese olmaktadır. PTGS2, inflamatuvar prostaglandinlerin üretiminden sorumludur. PTGS2'nin upregülasyonu ayrıca hücre adezyonu, fenotipik değişiklikler, apoptoza direnç ve tümör anjiyogenezi ile de ilişkilidir. PTGS2 kanser hücrelerinde; motilite, proliferasyon ve apoptoza direnç modülasyonunda önemli rol oynayan PGE₂ üretiminde önemli bir araçtır (Wishart ve ark., 2017).

Piroksikam, oral yoldan kullanıldığında hızlı bir şekilde absorbe edilir. Besinlerle ya da antiasitlerle birlikte alındığında biyoyararlanımı değişmez. Plazma proteinlerine %99 oranında bağlanır. Eliminasyon yarı ömrü 50 saattir. Eliminasyonu karaciğerde gerçekleşir. Yaklaşık % 50'si hidroksilasyonla metabolize olur ve glukuronik asitle konjuge edilir. Piroksikam ve biyotransormasyon ürünlerine büyük oranda idrarda ve bir miktar feçeste rastlanır. Uygulanan dozun yaklaşık %5'i değişmeden atılır. (Verbeeck ve ark., 1986; Drugs.com)

Bu tez çalışmasında, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlardan olan ve siklooksijenaz-1 (COX-1) ve siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimlerini inhibe eden piroksikam etkin maddesinin insan prostat kanseri hücre hatlarındaki antikanser etki mekanizmalarının araştırılması amaçlanmıştır. Bu kapsamda PC-3 prostat kanseri hücre hattı kullanılmış olup, piroksikamın söz konusu hücrelerde hücre canlılığı ve hücre döngüsü üzerine etkileri araştırılmıştır. Piroksikamın antiproliferatif etkinliğinin belirlenmesini takiben, söz konusu bileşiğin hücrelerde apoptotik etkinliği de çeşitli analiz yöntemleri ile değerlendirilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Kullanılan Gereçler

2.1.1. Kullanılan Cihazlar

Spektrofotometre (Thermo Scientific, Multiscan Go Microplate, Almanya)

Hücre Kültürü Kabini (Thermo Scientific)

Canlı hücre sayımında kullanılan hücre sayım cihazı (Bio-Rad California, USA)

Santrifüj cihazı (Sigma-Aldrich USA)

Spektrofotometrik ölçümde kullanılan Multiscan GO Microplate spektrofotometre cihazı (Thermo Scientific USA)

Etüv (Thermo Scientific USA)

Muse Analyzer cihazı (Merck Millipore Darmstadt, Almanya)

Vorteks Cihazı (Scilogex MX-S)

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

PC-3 hücre hattı (ATCC, Almanya)

Piroksikam maddesi (Abdi İbrahim Firması)

Tripsin/EDTA solusyonu (Lonza (İsviçre))

MTT ajanı (Sigma-Aldrich USA)

DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) besiyeri (Sigma-Aldrich USA)
(DMEM besiyerine haricen, %10 FBS (fötal sığır serumu), %1 oranında antibiyotik (penisilin-streptomisin) ve %1 oranında L-glutamin eklenmiştir.

Tripan mavisi (Bio-Rad California, USA)

Annexin V Assay kit (Merck Millipore Darmstadt, Almanya)

Cell Cycle Assay kit (Merck Millipore Darmstadt, Almanya)

Multi-Caspase Assay kit (Merck Millipore Darmstadt, Almanya)

Piroksikam +4 °C’ de muhafaza edilmiştir. Piroksikam, %10 DMSO içerisinde çözülerek dilüsyonlar hazırlanmış ve hazırlanan dilüsyonlar +4 °C’ de muhafaza edilmiştir.

2.2. Hücre Kültürü

PC-3 hücreleri 25 cm²’ lik flasklarda %10 FBS ve %1 antibiyotik (penisilin-streptomisin) ve %1 L-glutamin içeren DMEM besiyeri ortamında 37 °C, % 5 CO₂’ li etüvde inkübe edildi. Flask yüzeyini %90-95 oranında kaplamış hücreler pasajlandı. Hücreler yeterli yoğunluğa ulaştınca, etüvdev çıkarılarak steril hücre kültür kabine alındı. Her bir flaska 2.5 mL tripsin eklenerek hücrelerin yüzeyden kaldırılması sağlandı. Elde edilen hücre süspansiyonları flakonlara alınarak 3000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi ve çöktürüldü. Tripsin uzaklaştırıldıktan sonra yeterli miktar besiyeri ile homojenize edildi. Bu hücrelerden 96’ kuyucuklu plaklara ekim yapılmak üzere 10 µL Tripan mavisi kullanılarak hücre sayımı cihazında canlı hücre sayısı hesaplandı. Canlı hücre sayısı üzerinden hesaplanarak, mililitresinde 5x10⁴ hücre/mL olacak şekilde yeterli miktarda DMEM besiyeri ile homojenize bir hücre süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyondan plaklara her bir kuyucuğa 180 µL ekim yapıldıktan sonra etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldı.

2.3. Hücre Canlılık Testi

Hücreler etüvden çıkarılmadan önce yeterli miktar ve konsantrasyonda piroksikam çözeltisi hazırlandı. Bunun için piroksikam DMSO'da çözülerek 10 mM'lık 5 mL piroksikam çözeltisi hazırlandı. 24 saatlik inkübasyonun sonunda etüvden alınan plaklar steril hücre kültür kabinine alındı. Kuyucuklara son konsantrasyonu 10, 25, 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 μ M olacak şekilde 20 μ L piroksikam çözeltisi uygulandı. Plaklar, biri 24 saat, diğeri 48 saat olmak üzere inkübasyona bırakıldı. Belirtilen süreler sonunda inkübasyondan alınan plaklara MTT testi uygulandı. Bunun için öncelikle 5 mg/mL MTT (3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür) maddesi tartıldı ve DMEM besiyerinde çözüldü. Etüvden çıkarılan plaklardan eski besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra her bir kuyucuğa 180 μ L DMEM besiyeri ve 20 μ L MTT solüsyonu uygulandı. Plaklar tekrar etüvde 2 saat inkübasyona bırakıldı. 2 saat sonunda plaklardaki MTT solüsyonu aspire edildi ve 100 μ L DMSO solüsyonu uygulanarak 540 nm dalga boyunda spektrofotometre cihazında ölçüm yapıldı.

2.4. Hücre Döngüsü Analizi

PC-3 hücrelerinde değişik konsantrasyonlardaki piroksikamın hücre döngüsünü hangi aşamada etkilediğinin araştırılması amacı ile Cell Cycle Assay uygulandı. 12 kuyucuklu plaklara 2×10^5 hücre/ kuyucuk olacak şekilde hücre ekimi yapıldı. 37 °C, %5 CO₂'li etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra kuyucuklara son konsantrasyonlar; 25, 50, 100 ve 250 μ M olacak şekilde piroksikam çözeltisi eklendi. Kontrol grubu kuyucuklarına DMSO (%0.01) eklendi. Etüvde 48 saat inkübasyona bırakıldı. 48 saat sonra etüvden çıkarılan plaktan besiyeri aspire edildikten sonra hücreler 1.5 mL' lik eppendorf tüplere alındı. 5 dakika 300xg'de santrifüj edildi ve çöktürüldü. Süpernatant atılarak tripsin uzaklaştırıldı. Üzerlerine 500 μ L %70'lik soğuk etanol eklendi. -20 °C' de 3 saat inkübe edildi. 3 saatin sonunda tekrar santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Üzerlerine 200 μ L cell cycle ajanı eklendi ve vortekslendi. Ardından 30 dk boyunca oda sıcaklığında ve karanlık ortamda

inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından Muse Cell Analyzer cihazı ile ölçüm yapıldı.

2.5. Annexin V Bağlanma Analizi

PC-3 hücrelerinde değişik konsantrasyonlardaki piroksikamın apoptoz üzerindeki etkilerinin araştırılmasında Annexin V bağlama analizi yapıldı. Bunun için 12 kuyucuklu plaklara 2×10^5 hücre/ kuyucuk olacak şekilde hücre ekimi yapıldı. 24 saat inkübe edildikten sonra besiyeri uzaklaştırıldı. Kuyucuklara son konsantrasyonlar 25, 50, 100 ve 250 μ M olacak şekilde piroksikam çözeltisi eklendi. Kontrol grubu kuyucuklarına DMSO (%0.01) eklendi. Etüvde 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında hücreler 1,5 mL' lik eppendorf tüplere alındı. 5 dakika 300 x g' de santrifüj edildi ve çöktürüldü. Tripsin uzaklaştırıldıktan sonra her bir eppendorfa 1 mL DMEM besiyeri eklenerek vorteks yardımıyla homojenize edildi. Elde edilen homojenatların herbirinden 100 μ L ayrı birer eppendorf tüplere alınarak üzerlerine 100 μ L Annexin V ajanı eklenerek düşük hızda vortekslendi ve 20 dakika karanlıkta bekletildi. Bu süre sonunda her bir örnek için Muse Cell Analyzer cihazında ölçüm yapıldı.

2.6. Total Kaspaz Düzeyinin Tayini

Piroksikam maddesinin farklı konsantrasyonlarda, PC-3 hücrelerinde kaspaz düzeylerine olan etkisinin incelenmesi için Multi Caspase Assay uygulandı. Bunun için 12 kuyucuklu bir plağa 2×10^5 hücre/kuyucuk olacak şekilde PC-3 hücre ekimi yapıldı. Etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra besiyerleri uzaklaştırıldı. Kuyucuklara son konsantrasyonlar 25, 50, 100 ve 250 μ M olacak şekilde piroksikam çözeltisi eklendi. Kontrol grubu kuyucuklarına DMSO (%0.01) eklendi. 48 saat inkübasyonun ardından, hücreler eppendorflara alındı. 300 x g'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant aspire edildi. Santrifüjden sonra kit içeriğinde bulunan Caspase Buffer solüsyonundan (1x) 500 μ L eklenerek hücreler homojen bir şekilde süspande

edildi. Bu homojenatlardan 50'şer μL yeni eppendorflara alındıktan sonra, kitte bulunan MC-Reagent'den 5 μL ilave edilerek düşük hızda vortexlendi. Daha sonra 30 dakika 37 °C'de karanlıkta inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda her bir eppendorfa 150 μL kitte bulunan 7-aminoaktinomisin D (7-AAD) solüsyonu eklendi ve Muse Cell Analyzer cihazında ölçüm yapıldı.

2.7. Mitokondriyal Membran Potansiyeli Analizi

Piroksikamın farklı konsantrasyonlarda mitokondri membran potansiyeli üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile mitopotential assay uygulandı. Bunun için 12 kuyucuklu bir plağa 2×10^5 hücre/kuyucuk olacak şekilde PC-3 hücre ekimi yapıldı. Etüvde 24 saat inkübasyona bırakıldıktan sonra besiyerleri uzaklaştırıldı. Kuyucuklara son konsantrasyonlar 25, 50, 100 ve 250 μM olacak şekilde piroksikam çözeltisi eklendi. Kontrol grubu kuyucuklarına DMSO (%0.01) eklendi Etüvde 48 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra hücre homojenatları üzerine 95 μL mitopotential boyası eklendi ve 20 dakika 37 °C' de karanlıkta inkübasyona bırakıldı. 20 dakika sonunda tüplere 5 μL 7-AAD solüsyonu ilave edildi. 5 dakika karanlıkta bekletildikten sonra Muse Cell Analyzer cihazında ölçüm yapıldı.

2.8. İstatistiksel Analiz

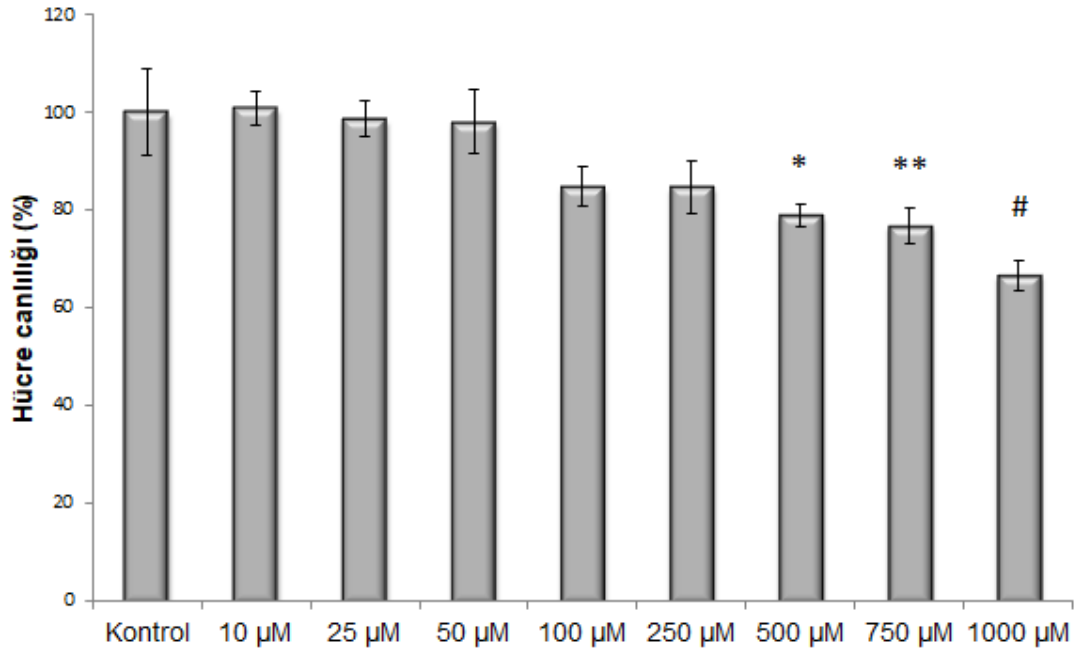
Verilerin istatistiksel analizlerinde GraphPad Prism Version 6.0. programı kullanılmış ve gruplar arası karşılaştırmalar, one-way ANOVA testi ile yapılmıştır.

3. BULGULAR

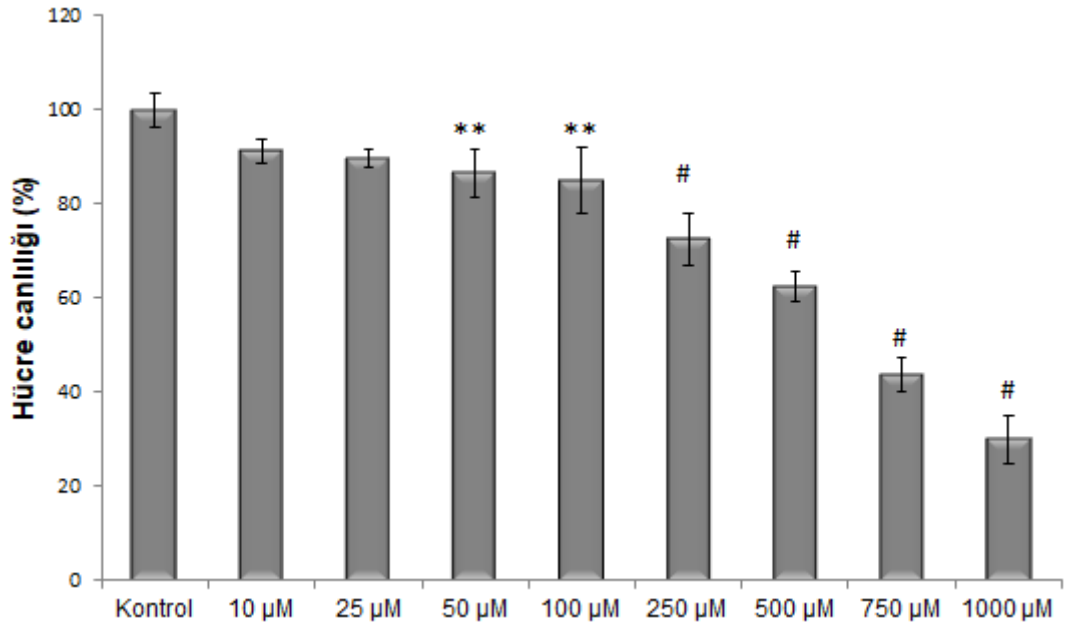
3.1. Hücre Canlılık Testi

Piroksikamın hücre canlılığı üzerine etkisinin incelenmesi amacı ile PC-3 hücrelerine son konsantrasyonu 10 -1000 μ M arasında değişen piroksikam çözeltisi uygulanmış ve 24. ve 48. saatlerde hücre canlılığının inhibisyonu MTT testi ile belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, PC-3 hücrelerine piroksikam uygulamasından 24 saat sonra hücre canlılığı 500 μ M uygulanan grupta 78.94 ± 2.22 ($p=0,0252$), 750 μ M uygulanan grupta $76,86 \pm 3,73$ ($p=0,0050$) ve 1000 μ M uygulanan grupta $66,73 \pm 3,10$ ($p<0,0001$) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1.1., Çizelge 3.1.1.).

48 saat inkübasyona bırakılan PC-3 hücrelerinde ise hücre canlılığı 50 μ M uygulanan grupta $86,52 \pm 5,21$ ($p=0,0096$), 100 μ M uygulanan grupta $85,03 \pm 7,16$ ($p=0,0030$), 250 μ M uygulanan grupta $72,54 \pm 5,62$ ($p<0,0001$), 500 μ M uygulanan grupta $62,31 \pm 3,19$ ($p<0,0001$), 750 μ M uygulanan grupta $43,73 \pm 3,64$ ($p<0,0001$), ve 1000 μ M uygulanan grupta $29,87 \pm 4,99$ ($p<0,0001$) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.1.2., Çizelge 3.1.1.).



Şekil 3.1.1. Piroksikamın 24 saat inkübasyon sonrası PC-3 hücre canlılığı üzerine etkisi. (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; # $p < 0,0001$, kontrole göre anlamlılık)



Şekil 3.1.2. Piroksikamın 48 saat inkübasyon sonrası PC-3 hücre canlılığı üzerine etkisi. (** $p < 0,01$; # $p < 0,0001$, kontrole göre anlamlılık)

Çizelge 3.1.1. Piroksikamın farklı konsantrasyonlarda 24 saat ve 48 saat inkübasyonun ardından PC-3 hücre canlılığı üzerine etki sonuçları ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. (p değerleri kontrole göre belirlenmiştir).

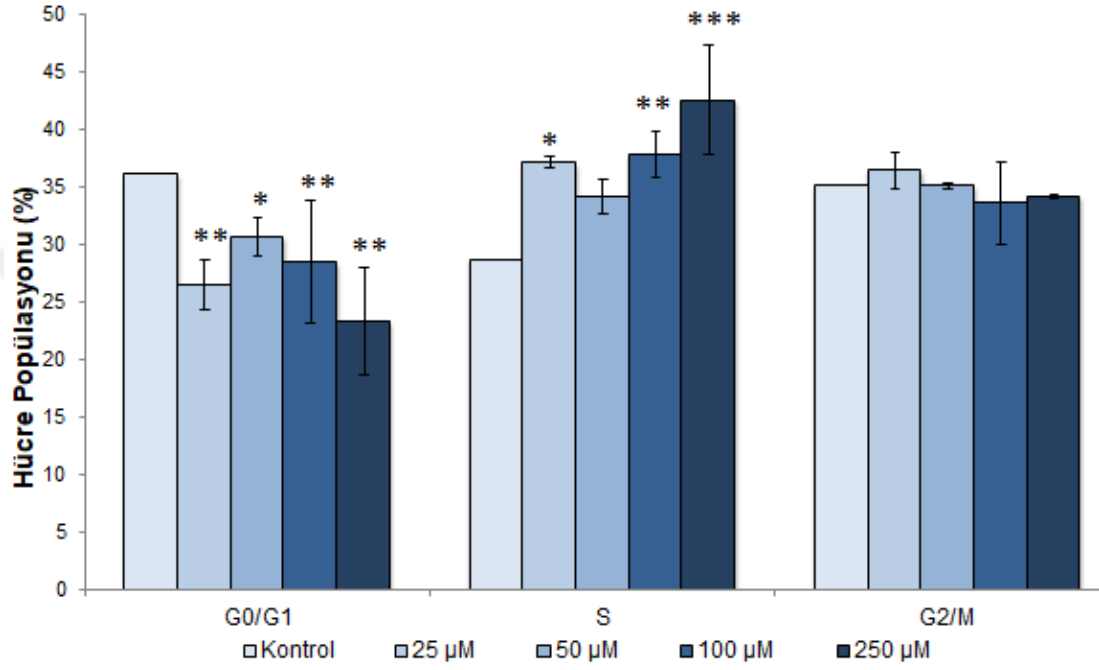
	Hücre canlılığı		p değerleri	
	24.saat	48.saat	24.saat	48.saat
Kontrol	100,0±8,78	99,94±3,54		
10 µM	100,80±3,33	91,09±2,60	ns	ns
25 µM	98,55±3,65	89,64±1,90	ns	ns
50 µM	97,96±6,5	86,52±5,21	ns	0,0096
100 µM	84,73±0,34	85,03±7,16	ns	0,0030
250 µM	84,66±5,34	72,54±5,62	ns	<0,0001
500 µM	78,94±2,22	62,31±3,19	0,0252	<0,0001
750 µM	76,86±3,73	43,73±3,64	0,0050	<0,0001
1000 µM	66,73±3,10	29,87±4,99	<0,0001	<0,0001

Elde edilen hücre canlılığı analizi verilerine göre, piroksikam çözeltisinin 48. saatte daha yüksek etkinlik gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle, sonraki analizler için hücreler 48 saat inkübe edilmiştir.

3.2. Hücre Döngüsü Analizi

Piroksikamın hücre döngüsü üzerine olan etkisini incelemek amacı ile Cell Cycle Assay Kit kullanıldı ve PC-3 hücrelerinde 25-µM arasında değişen konsantrasyonlarda piroksikam çözeltisi uygulandı. Elde edilen verilere göre, G0/G1 evresindeki hücre popülasyonu yüzdesi kontrol grubunda % 36,05±0,0 iken, 25, 50, 100 ve 250 µM uygulanan gruplarda sırasıyla % 26,4±2,1 (p=0,0032), % 30,6±1,70 (p=0,0210), % 28,4±5,37 (p=0,0045) ve % 23,2±4,67 (p=0,002) olarak saptandı (Çizelge 3.3.1., Şekil 3.3.1.). S evresindeki hücre popülasyonu yüzdesi, kontrol grubunda %28,65±0,0 iken, 25, 100 ve 250 µM piroksikam çözeltisi uygulanan gruplarda sırasıyla % 37,05±0,5 (p=0,0116), % 37,8±1,98 (p=0,0069), % 42,5±4,81 (p=0,0003) olarak saptandı (Çizelge 3.3.1., Şekil 3.3.1.). G2/M evresindeki hücre popülasyonu yüzdesi kontrol grubunda %35,05±0,0 olarak tespit edildi; ancak, piroksikam çözeltisi uygulanan gruplar ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Elde edilen verilere göre, piroksikam çözeltisinin PC-3 hücrelerinde

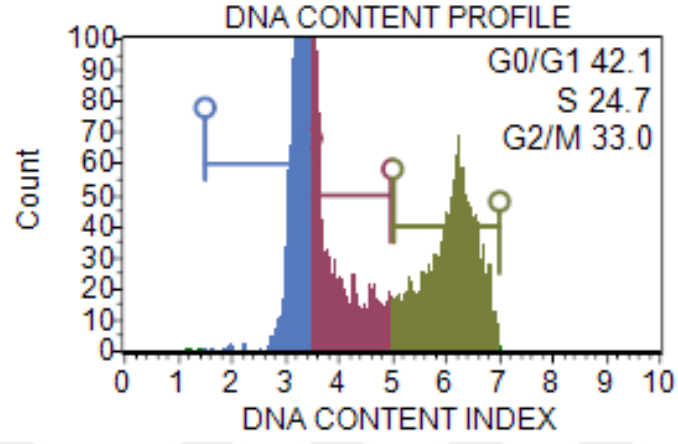
hücre siklusunu S evresinde durdurduğu belirlendi (Şekil 3.2.2., Şekil 3.2.3., Şekil 3.2.4., Şekil 3.2.5., Şekil 3.2.6.).



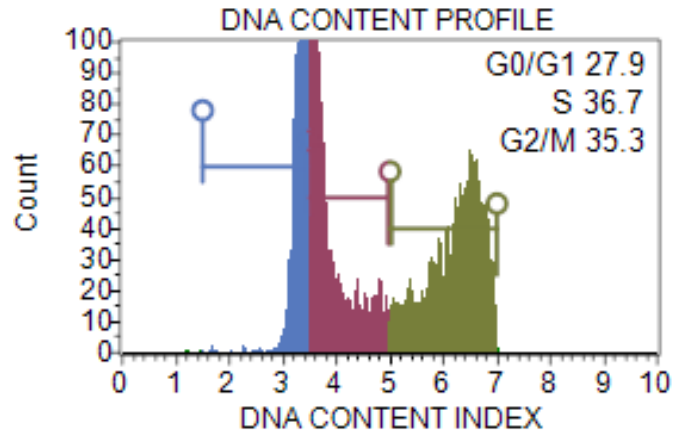
Şekil 3.2.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde hücre döngüsü üzerine etkisi (* p < 0,05; ** p < 0,01, kontrole göre anlamlılık)

Çizelge 3.2.1. Piroksikam çözeltisinin 48 saat inkübasyonun ardından PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü üzerine etki sonuçları ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

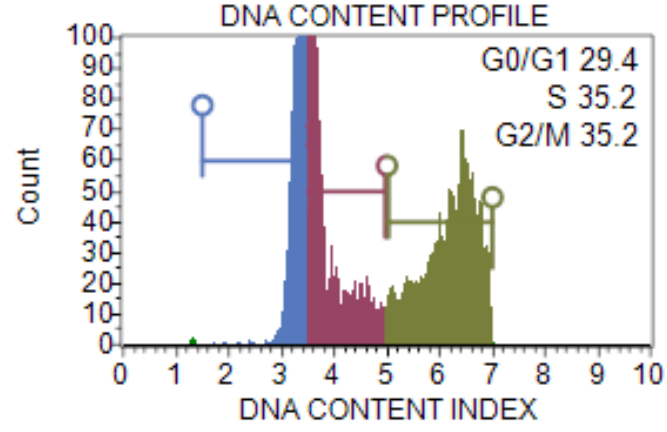
	G0/G1	p Değerleri	S	p Değerleri	G2/M	p Değerleri
Kontrol	36,05±0,0		28,65±0,0		35,05±0,0	
25 µM	26,4±2,1	0,0032	37,05±0,5	0,0116	36,4±1,6	0,9834
50 µM	30,6±1,70	0,0210	34,1±1,56	0,0885	35,05±0,21	0,9999
100 µM	28,4±5,37	0,0045	37,8±1,98	0,0069	33,55±3,61	>0,9999
250 µM	23,2±4,67	0,002	42,5±4,81	0,0003	34,10±0,14	>0,9999



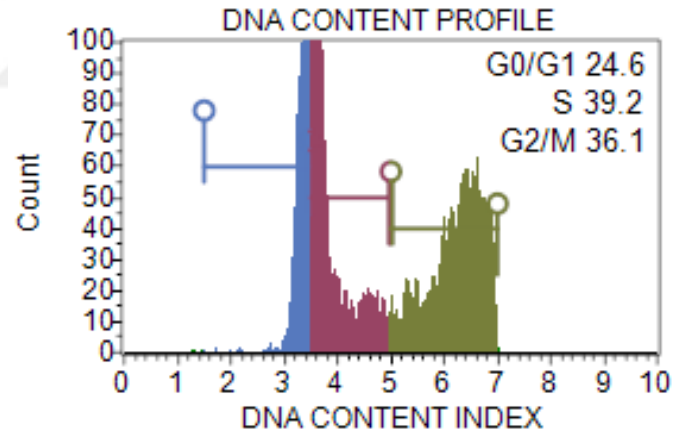
Şekil 3.2.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi kontrol grubu sonuçları.



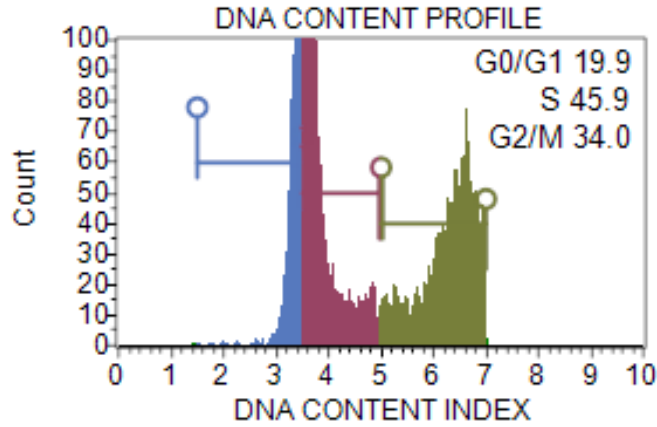
Şekil 3.2.3. 25 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları.



Şekil 3.2.4. 50 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları.



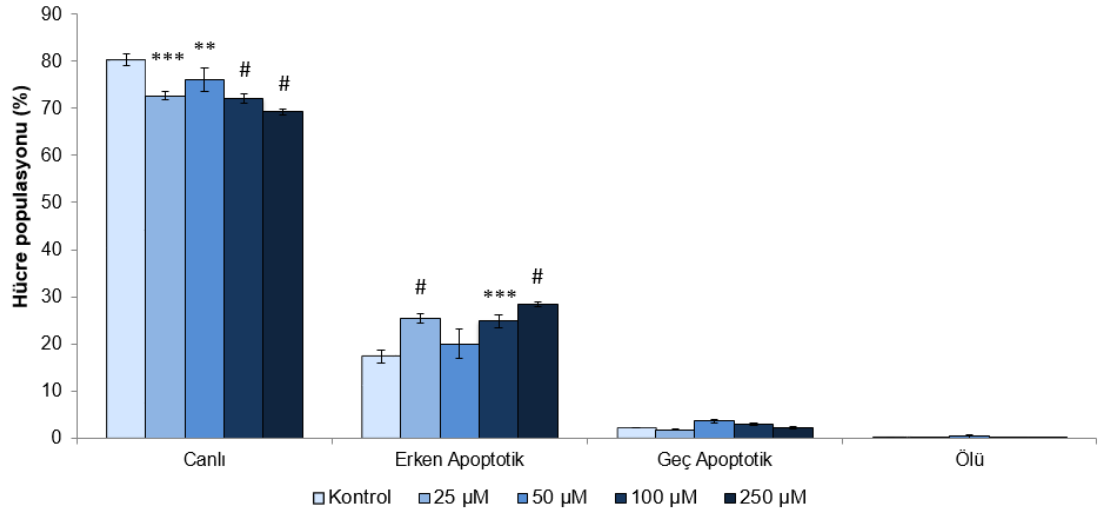
Şekil 3.2.5. 100 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları.



Şekil 3.2.6. 250 µM piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde hücre döngüsü analizi sonuçları

3.3. Annexin V Bağlanma Analizi

Piroksikamın 25, 50, 100 ve 250 µM'lık konsantrasyonlarının PC-3 hücreleri üzerindeki apoptotik etkileri Annexin V testi ile araştırıldı. Annexin V bağlanma testinden elde edilen verilere göre, kontrol grubunda % 17,37±1,38 erken apoptoz ve % 2,20±0,03 geç apoptoz görülürken 25, 50, 100 ve 250 µM uygulanan hücrelerde sırasıyla; % 25,45±0,99 ($p<0,0001$), % 20,03±3,22 ($p=0,6883$), % 24,83±1,31 ($p=0,0003$) ve % 28,45±0,42 ($p<0,0001$) erken apoptoz görülerek istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilmiştir (Çizelge 3.3.1., Şekil 3.3.1). Kontrol grubuyla kıyaslanan hiçbir konsantrasyonda geç apoptoz ve ölü apoptoz oranlarında anlamlı bir sonuç görülmemiştir (Çizelge 3.3.1., Şekil 3.3.1). Elde edilen verilere göre piroksikamın uygulanan konsantrasyonlarda PC-3 hücrelerini apoptoza yönlendirdiği sonucuna ulaşıldı (Şekil 3.3.2., Şekil 3.3.3., Şekil 3.3.4., Şekil 3.3.5., Şekil 3.3.6.).



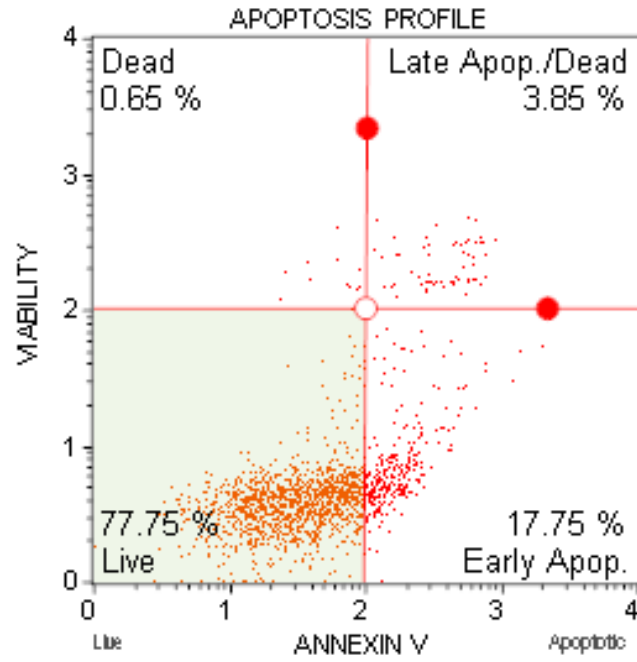
Şekil 3.3.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde apoptotik etkisi. (** p < 0,01; *** p < 0,001; # p < 0,0001; kontrole göre anlamlılık)

Çizelge 3.3.1. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Annexin V testi sonuçları ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

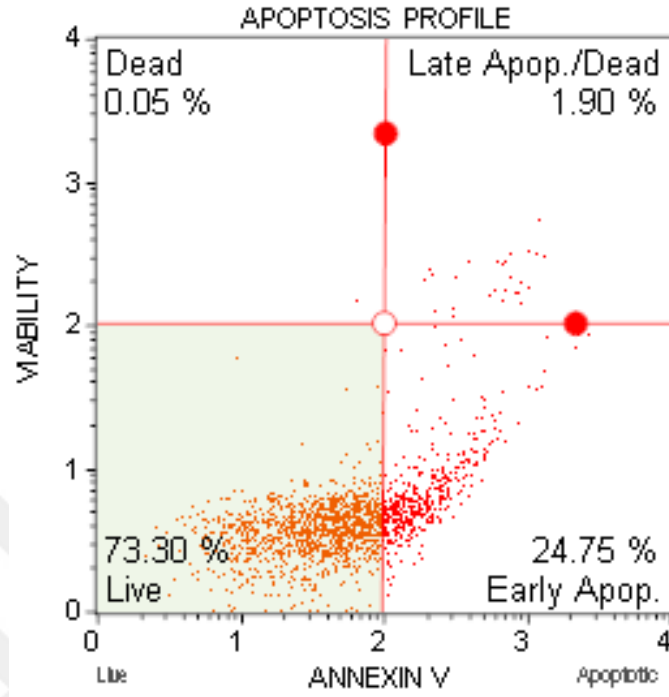
	Canlı	Erken Apoptotik	Geç Apoptotik	Ölü
Kontrol	80,35±1,33	17,37±1,38	2,20±0,03	0,09±0,02
25 µM	72,68±0,88	25,45±0,99	1,80±0,14	0,08±0,03
50 µM	76,00±2,47	20,03±3,22	3,58±0,39	0,4±0,35
100 µM	72,10±1,06	24,83±1,31	2,98±0,18	0,1±0,07
250 µM	69,23±0,6	28,45±0,42	2,18±0,25	0,15±0,07

Çizelge 3.3.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Annexin V testi sonuçlarının kontrol grubuna kıyasla p değerleri.

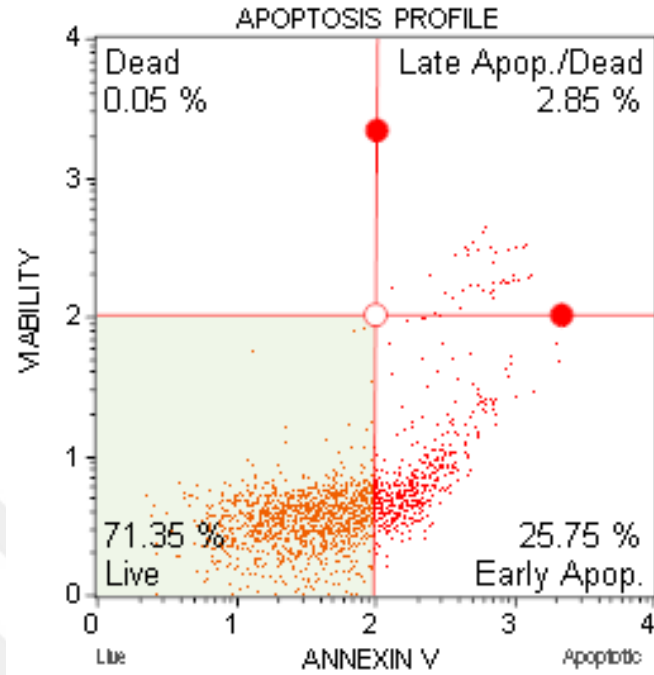
	Canlı	Erken Apoptotik	Geç Apoptotik	Ölü
Kontrol				
25 µM	0,0002	<0,0001	>0,9999	>0,9999
50 µM	0,0741	0,6883	>0,9999	>0,9999
100 µM	<0,0001	0,0003	>0,9999	>0,9999
250 µM	<0,0001	<0,0001	>0,9999	>0,9999



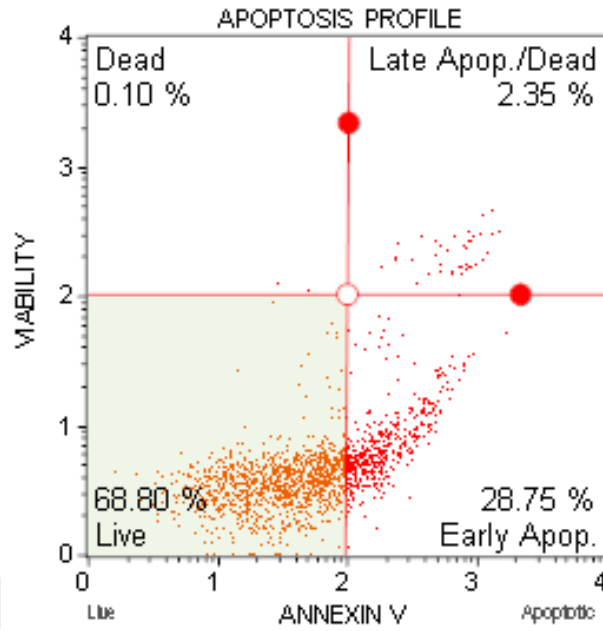
Şekil 3.3.3. 25 μ M piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.3.4. 50 μ M piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



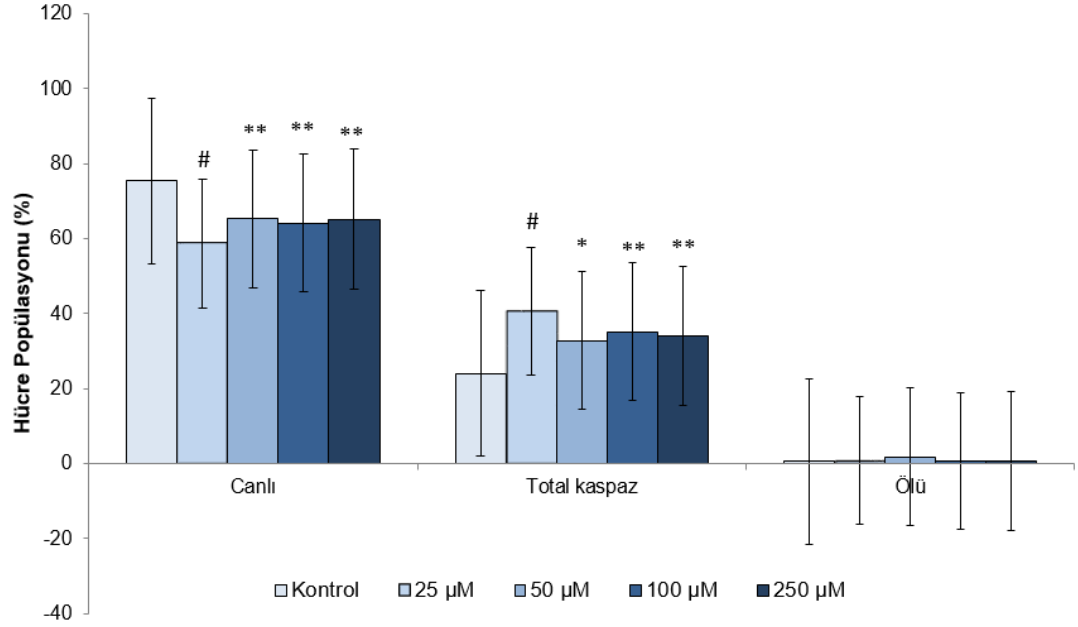
Şekil 3.3.5. 100 μ M piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.3.6. 250 μ M piroksikamın PC-3 hücrelerinde Annexin V bağlanma testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, 7-AAD negatif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, 7-AAD pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.

3.4. Total Kaspaz Düzeyinin Tayini

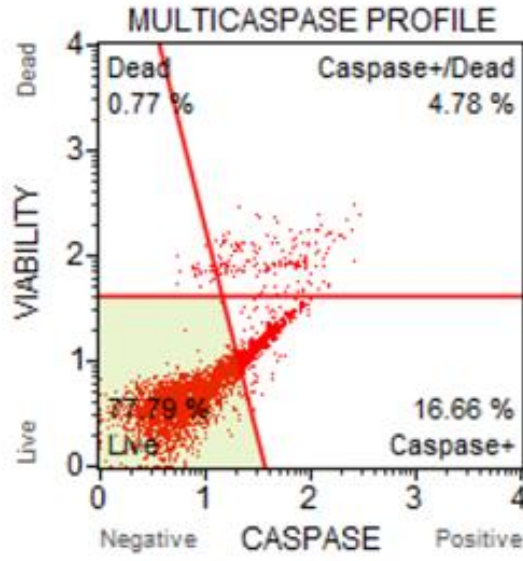
Piroksikamın 25,50,100 ve 250 μ M konsantrasyonlarda PC-3 hücreleri üzerinde apoptotik etkisinin incelenmesi amacıyla kaspaz düzeyleri ölçülmüştür. 48 saat piroksikama maruz bırakılan hücrelerde elde edilen verilere göre, Kontrol grubunda Total Kaspaz % $24,08 \pm 3,73$ iken; 25 μ M uygulanmasında Total Kaspaz % $40,55 \pm 1,70$ ($p < 0,0001$), 50 μ M uygulanmasında % $32,88 \pm 0,60$ ($p = 0,0236$), 100 μ M uygulanmasında % $35,13 \pm 3,43$ ($p = 0,0032$) ve 250 μ M uygulanmasında % $34,05 \pm 1,13$ ($p = 0,0082$) sonuçları elde edilmiştir (Çizelge 3.4.1, Şekil 3.4.1). Yapılan test sonucunda elde edilen verilere göre piroksikam PC-3 hücrelerinde total kaspaz düzeylerini arttırmaktadır (Şekil 3.4.2., Şekil 3.4.3., Şekil 3.4.4., Şekil 3.4.5., Şekil 3.4.6.).



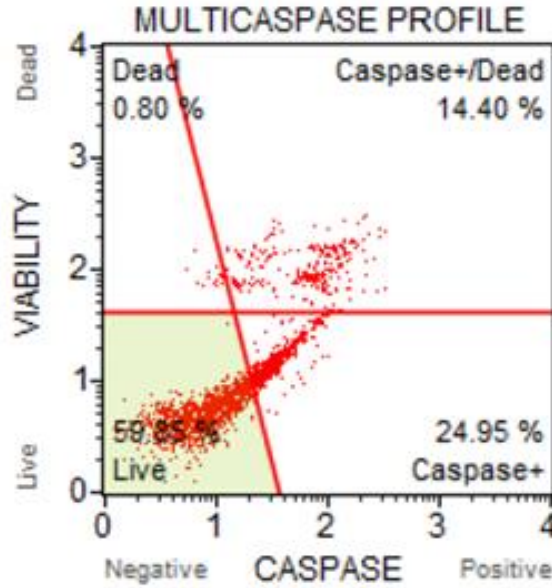
Şekil 3.4.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde kaspaz düzeyi üzerine etkisi. (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; # $p < 0,0001$; kontrole göre anlamlılık)

Çizelge 3.4.1. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde total kaspaz düzeyine etkisi ve kontrol grubuna kıyasla p değerleri (sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir).

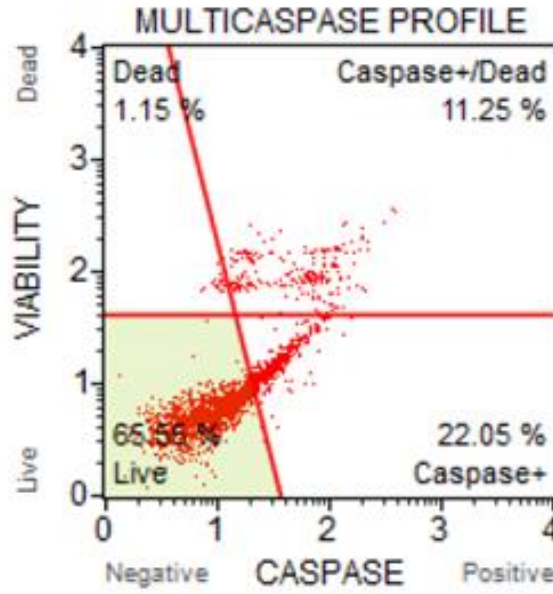
	Canlı	p Değerleri	Total Kaspaz	p Değerleri	Ölü	p Değerleri
Kontrol	75,44±3,32		24,08±3,73		0,49±0,4	
25 µM	58,65±1,70	< 0,0001	40,55±1,70	< 0,0001	0,8±0,0	>0,9999
50 µM	65,3±0,35	0,0071	32,88±0,60	0,0236	1,83±0,95	>0,9999
100 µM	64,15±3,68	0,0026	35,13±3,43	0,0032	0,72±0,25	>0,9999
250 µM	65,18±0,46	0,0063	34,05±1,13	0,0082	0,78±0,67	>0,9999



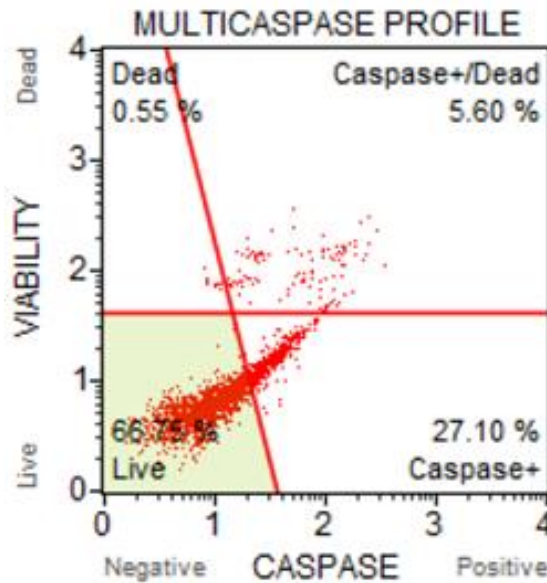
Şekil 3.4.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi kontrol grubu sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, kaspaz pozitif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, kaspaz pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



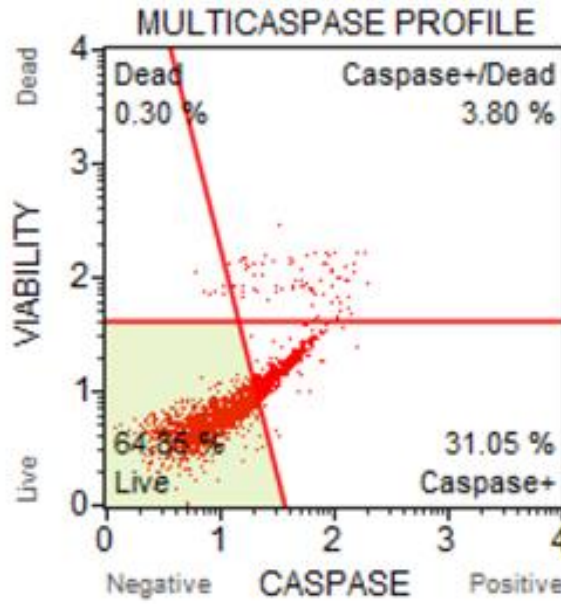
Şekil 3.4.3. 25 µM Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, kaspaz pozitif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, kaspaz pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.4.4. 50 μ M Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, kaspaz pozitif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, kaspaz pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.4.5. 100 μ M Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, kaspaz pozitif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, kaspaz pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.

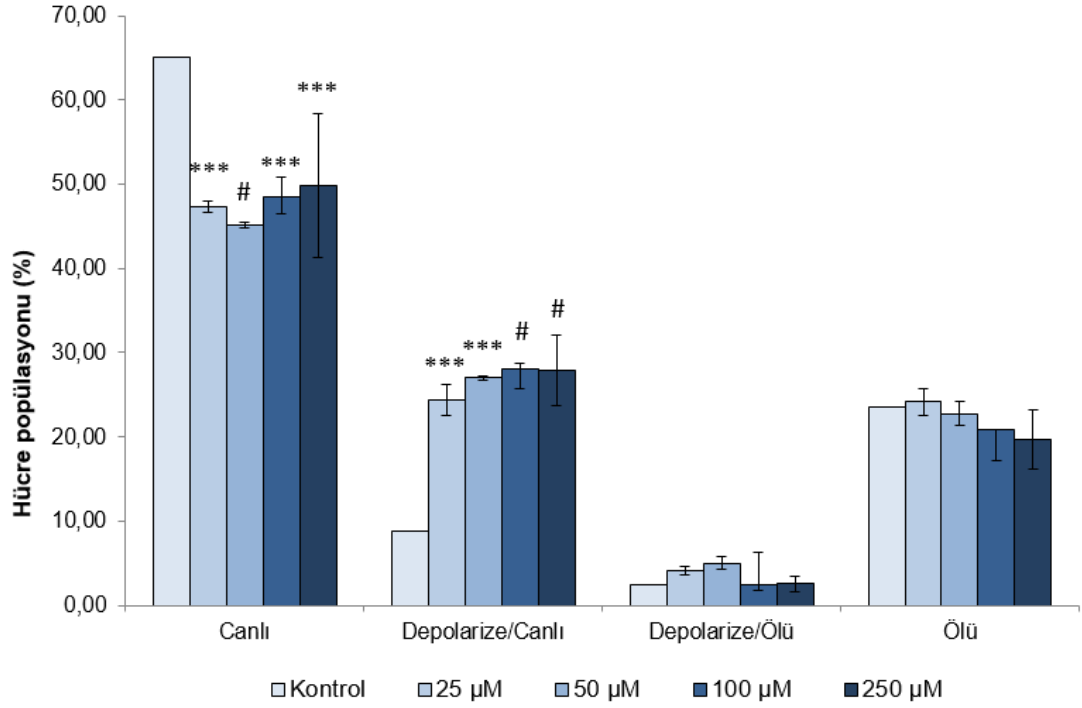


Şekil 3.4.6. 250 μ M Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde Multikaspaz testi sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge apoptotik olmayan, kaspaz negatif ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge apoptotik, kaspaz pozitif canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge apoptotik, kaspaz pozitif ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.

3.5. Mitokondriyal Membran Potansiyelinin Tayini

Piroksikamın 25, 50, 100 ve 250 μ M'lık konsantrasyonlarının PC-3 hücreleriyle 48 saat inkübasyonunun ardından mitokondri membran depolarizasyonu üzerine etkisinin incelenmesinde Mitopotential Assay yapıldı. Elde edilen verilere göre kontrol grubunda canlı hücre popülasyonu % 65,10 $\pm$ 0,0 olarak tespit edilirken; 25, 50, 100 ve 250 μ M uygulanmasının ardından istatistiksel olarak anlamlı olarak sırasıyla % 47,33 $\pm$ 0,67 (p=0,0002), % 45,18 $\pm$ 0,39 (p<0,0001), % 48,48 $\pm$ 2,02 (p=0,0004) ve % 49,80 $\pm$ 8,56 (p=0,0011) sonuçları elde edilmiştir. Depolarize/Canlı hücre popülasyonu kontrol grubunda % 8,85 tespit edilirken 25 μ M için % 24,40 $\pm$ 1,77 (p=0,0009), 50 μ M için % 27,03 $\pm$ 0,25 (p=0,0001); 100 μ M için % 28,08 $\pm$ 2,37 (p<0,0001) ve 250 μ M için % 27,93 $\pm$ 4,14 (p < 0,0001) sonuçları elde edilmiştir. Depolarize/Canlı hücre popülasyonu sonuçları istatistiksel olarak anlamlı iken Depolarize/Ölü ve Ölü hücre popülasyonları için elde edilen sonuçlar istatistiksel

olarak anlamlı bulunmamıştır. Elde edilen verilere göre piroksikamın mitokondri membran potansiyeli üzerine etkisi olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Şekil 3.5.2., Şekil 3.5.3., Şekil 3.5.4., Şekil 3.5.5., Şekil 3.5.6.).



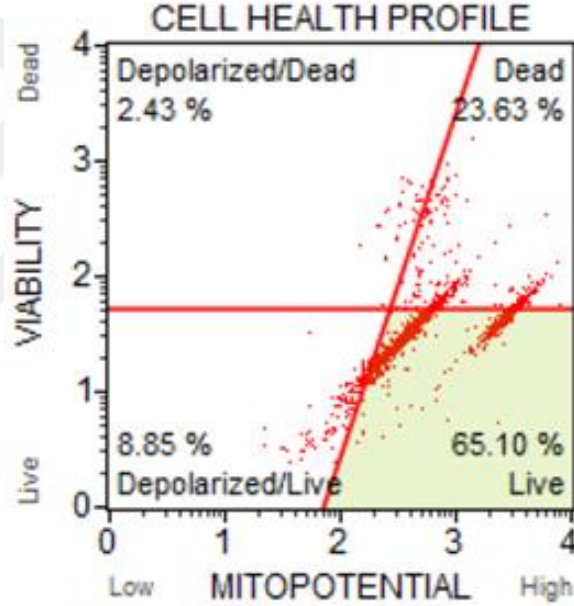
Şekil 3.5.1. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etkisi. (*** p < 0,001; # p < 0,0001; kontrole göre anlamlılık)

Çizelge 3.5.1. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları ortalama±standart sapma olarak verilmiştir..

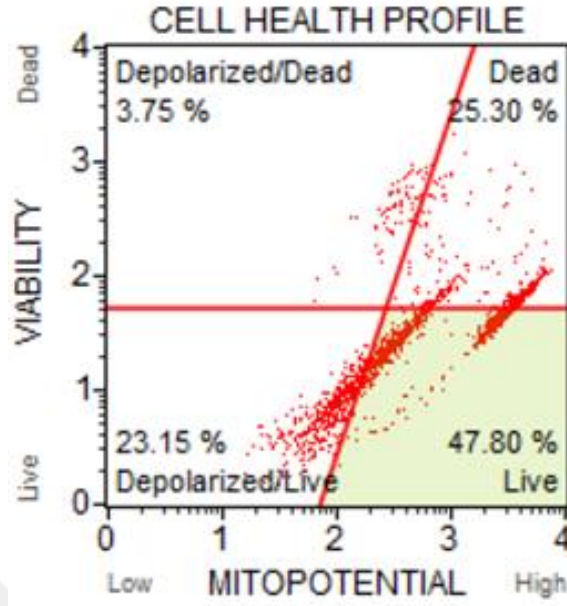
	Canlı	Depolarize/Canlı	Depolarize/Ölü	Ölü
Kontrol	65,10±0,0	8,85±0,0	2,43±0,0	23,63±0,0
25 µM	47,33±0,67	24,40±1,77	4,13±0,53	24,15±1,63
50 µM	45,18±0,39	27,03±0,25	5,03±0,74	22,78±1,38
100 µM	48,48±2,02	28,08±2,37	2,50±0,64	20,95±3,75
250 µM	49,80±8,56	27,93±4,14	2,60±0,92	19,68±3,5

Çizelge 3.5.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları kontrol grubuna kıyasla p değerleri.

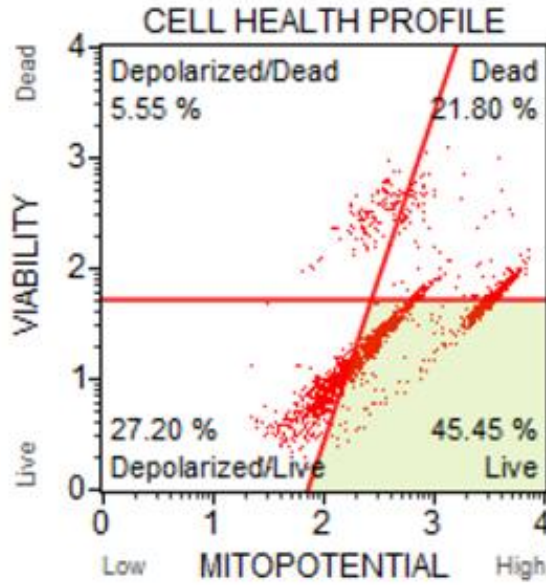
	Canlı	Depolarize/Canlı	Depolarize/Ölü	Ölü
Kontrol				
25 μ M	0,0002	0,0009	> 0,9999	0,9860
50 μ M	< 0,0001	0,0001	> 0,9999	0,9999
100 μ M	0,0004	< 0,0001	> 0,9999	> 0,9999
250 μ M	0,0011	< 0,0001	> 0,9999	> 0,9999



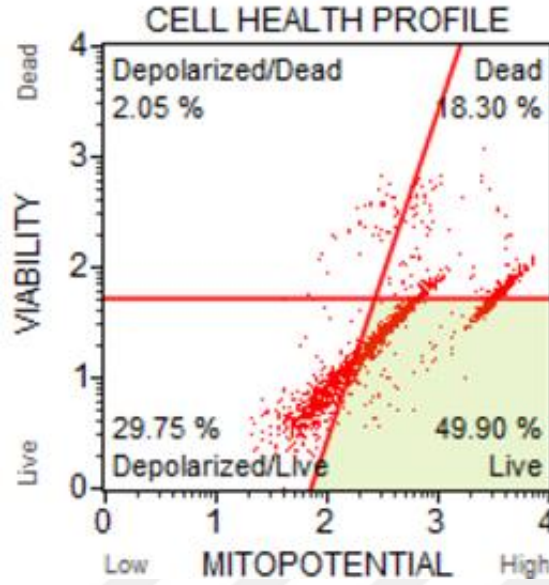
Şekil 3.5.2. Piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etkisi kontrol grubu sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge depolarize canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge depolarize ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge Depolarize olmayan canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge Depolarize olmayan ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



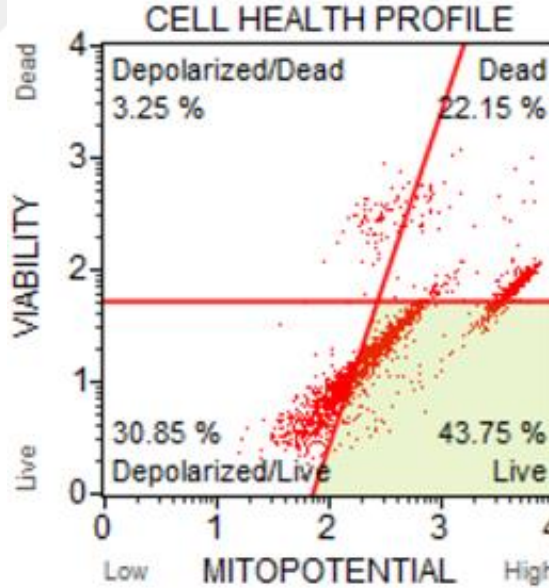
Şekil 3.5.3. 25 μ M piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge depolarize canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge depolarize ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge Depolarize olmayan canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge Depolarize olmayan ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.5.4. 50 μ M piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge depolarize canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge depolarize ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge Depolarize olmayan canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge Depolarize olmayan ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.5.5. 100 μ M piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge depolarize canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge depolarize ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge Depolarize olmayan canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge Depolarize olmayan ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.



Şekil 3.5.6. 250 μ M piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde mitokondriyal membran potansiyeli üzerine etki sonuçları. Şekilde görülen dört bölgeden; sol alt bölge depolarize canlı hücre popülasyonunu, sol üst bölge depolarize ölü hücre popülasyonunu, sağ alt bölge Depolarize olmayan canlı hücre popülasyonunu, sağ üst bölge Depolarize olmayan ölü hücre popülasyonunu göstermektedir.

4. TARTIŞMA

İnflamasyon ve kanser arasındaki ilişki uzun zamandır bilinmektedir. Bu nedenle kanser tedavisinde, gelişen inflamasyonun da tedavi edilmesi ve antiinflamatuvar ajanların kullanılması, araştırmacıların uzun yıllardan beri ilgi odağı olmuştur (Balkwill ve Mantovani, 2001). Ayrıca inflamatuvar ajanların hücre çoğalması ve apoptoz üzerindeki etkilerinin yanısıra, kanserli dokularda artış gösterdiğinin tespit edilmesi de, tedavide hedef olarak kullanılabilecek moleküllerin belirlenmesinde aracı olmuştur (Balkwill ve Mantovani, 2001).

İnflamasyonun mekanizmasında önemli rol oynayan COX-1 ve COX-2 enzimleri ve metabolitleri kanser tedavisindeki hedefler arasında yer almaktadır (Rayburn ve ark., 2009). COX-2 indüklenebilen bir enzimdir ve meme, pankreas, prostat, akciğer, servikal, intestinal ve cilt gibi bazı kanser türlerinde patofizyolojik işlemlerde hayati rollere sahiptir (Joanne ve Raymond, 2004; Zha ve ark., 2004; Jiao ve ark., 2014; Wang ve ark., 2014; Wu ve ark., 2015). COX-2 ekspresyonu inflamasyon, hücre sağkalımı, proliferasyon, anjiyogenezis, invazyon ve metastaz ile ilişkilidir (Wang ve ark., 2015; Qu ve Liu, 2015; Li ve ark., 2015; Misron ve ark., 2015). COX-2 düzeyinin artışı, tümör proliferasyonu için prostaglandin ve VEGF üretiminde önemli bir rol oynamaktadır (Park ve ark., 1996). COX-2 inhibe edici etkisi nedeni ile, kanser tedavisi ve kemoproventif etkileri üzerine çalışmalar yapılmış çeşitli moleküller bulunmaktadır. Apigenin (Tong ve ark., 2014; Byun ve ark., 2013), polifenol (Seeram ve ark., 2006), öjanol (Kim ve ark., 2003), ürsolik asit (Tian ve ark., 2006) ve kafeik asit (Kang ve ark., 2009; Kuo ve ark., 2015) kemoprentif etkisi COX-2 inhibibisyonundan ileri geldiği öne sürülen doğal kaynaklı moleküllerden bazılarıdır.

Bu bağlamda antiinflamatuvar etkiye sahip popüler ilaç gruplarından olan NSAİ'ler de büyük ilgi görmektedir. Pek çok deneysel çalışma NSAİ'lerin antikanser etkilerinin altında yatan mekanizmaları ya hücre dizileri ya da hayvan modelleri

kullanarak araştırmaktadır. Kolorektal kanser dışındaki kanserler üzerine daha az epidemiyolojik çalışma olmasına rağmen, NSAİ'lerin uzun süreli kullanımları ile meme (Sharpe ve ark. 2000, Khuder ve ark. 2001), akciğer (Muscat ve ark. 2003), prostat (Norrish ve ark. 1998), over (Cramer ve ark. 1998), yemek borusu ve mide (Thun ve ark. 1993) tümör insidansı arasında ters bir korelasyon olduğu bildirilmiştir.

NSAİ'lerin kanser geliştirme riskini azalttığını bildiren epidemiyolojik çalışmalar, meme ve diğer kanser türleri üzerinde yapılan deneysel hayvan modeli çalışmalarla da desteklenmiştir. Rodentler üzerinde yapılan NSAİ'lerin antikanser aktivitesinin ilk çalışmaları arasında Pollard ve Luckert (1980); Narisawa ve ark. (1981) yaptığı çalışmalar yer alır. Bu araştırmacılar, indometazinin intestinal tümörler üzerindeki inhibitör etkilerini incelemişler ve indometasin uygulanan sıçanların uygulanmayanlara göre tümör insidansının anlamlı şekilde düşük olduğunu ortaya koymuşlardır.

Yapılan araştırmalarda, selekoksib (Alshafie ve ark., 2000) ve laproksen sodyumun (Yao ve ark., 2005) kanser önleyici etkileri olduğu gösterilmiştir. Sıçan meme modeli kullanılan in vivo bir çalışmada selekoksibin %90 oranında tümör gerilemesine ve elle tutulur tümörlerin sayısında %25 oranında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Alshafie ve ark., 2000). Başka bir çalışmada, fare ve insan kolorektal kanser hücre proliferasyonunun ibuprofen ile inhibe edildiği bildirilmiştir. Ayrıca, loksoprofenin farelerde implante Lewis akciğer karsinomasının büyümesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu ilaçla tedavi edilen farelerde intratümöral vesiküllerin dansitesinin daha düşük olduğu ve VEGF mRNA ekspresyonunun redükte olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada bir hafta boyunca loksoprofen ile tedavi edilmiş (120 mg/gün) küçük hücreli akciğer kanseri olan hastaların VEGF plazma seviyelerinde azalma olduğu gösterilmiştir. Çalışmada anjiyogenezisin inhibisyonunun VEGF inhibisyonundan kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (Kanda ve ark., 2009).

Aspirinin doksurubisin ile kombine edildiği bir diğer çalışmada, hem in vivo hem de in vitro olarak HepG2 insan hepatoselüler karsinoma hücreleri üzerinde sinerjik antikanser etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. İki ilaç kombine olarak kullanıldığında hücre döngüsünün durdurulmasında, büyümenin inhibe edilmesinde ve apoptozda in vitro güçlü sinerjizm gösterirken; nude farelerde HepG2 hücre ksenografisinde sinerjik antitümör aktivite gözlenmiştir (Hossain ve ark., 2012).

2019 yılında aktinik keratozis hastalarında piroksikam kullanılarak yapılan bir çalışmada, piroksikam ve güneş kremi ile tedavi edilen hastalarda ciltte görülen dermoskopik özelliklerde azalma ve yok olma görüldüğü; ayrıca, cilt kanserinde önemli rol oynadığı kanıtlanan MMP'lerin ekspresyonunu azalttığı rapor edilmiştir (Diluvio ve ark., 2019).

Piroksikama kimyasal yapı olarak oldukça benzeyen lornoksikamın intravenöz kullanımı sonrasında TLR-2 ve TLR-4 ekspresyonunu ve proinflamatuvar sitokinlerin üretimini düşürdüğü saptanmıştır (Gorsky ve ark., 2015). Bir başka çalışmada da lornoksikamın kronik inflamasyon ile ilişkisi olan kemotaktik proteinlerin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiş ve söz konusu bileşiğin immün fonksiyonların stabil hale getirilmesinde kullanılabileceği öne sürülmüştür (Jiao ve Ren, 2009).

Piroksikam, diklofenak ve deksametazonun fibrokarsinom hücre hattı üzerinde apoptoz ve MMP-2 aktivitesi üzerine olan etkileri incelenmiştir. Piroksikamın MMP-2 aktivitesini durdurduğu ve apoptozu indüklediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca piroksikamın, diklofenak ve deksametazon ile karşılaştırıldığında daha iyi tolere edildiği gösterilmiştir (Mirshafiey ve ark., 2004).

Polard ve Luckert (1986) piroksikam ile tedavi edilen, transplante edilebilir sıçan prostat adenokarsinomu III hücrelerinde, tümör büyümesi, metastaz ve kemik dejenerasyonunun baskılandığını göstermişlerdir. Bir başka çalışmada, kimyasal olarak indüklenmiş ve indometazin ile takviye edilmiş prostat karsinomu F344 sıçan modelinde, tümör baskılayıcı etki ve PGE₂ seviyesinde anlamlı bir düşüş rapor

edilmiştir. İndometazin, tromboksan sentaz inhibitörü ve nafazatron ile tedavi edilen prostat kanseri sıçan modelinde, kontrol grubuna kıyasla daha az metastaz gerçekleştiği bildirilmiştir (Kawabe ve ark., 1997). Gupta ve arkadaşları (2002) selekoksib uygulanan farelerde, prostat kanseri hacminin önemli ölçüde düştüğünü ve kontrol grubuna kıyasla daha az akciğer ve lenf nodu metastazı görüldüğünü bildirmiştir.

2015 yılında Rai ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada, piroksikamın, MCF-7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki etkinliği incelenmiştir. Araştırmacılar, piroksikamın hücre canlılığını azalttığını ve hücrelerde intraselüler reaktif oksijen radikallerini arttırarak apoptozu indüklediğini bildirmişlerdir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Prostat kanseri, her yıl yaklaşık 1,5 milyon vaka ile erkeklerde önde gelen kanser türleri arasında yer almakta ve insidansı artarak devam etmektedir. Erken dönemde belirti göstermemesinin yanında erken teşhis ve önleyici tedavi rejimleri önem arz etmektedir. Hastalığın gelişimi ve ilerlemesinde inflamasyonun ve inflamatuvar ajanların etkilerini kanıtlayan çalışmalar bulunmaktadır. Ancak hastalığın ilerlemesini yavaşlatıcı ya da durdurucu tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda, bazı NSAİ'lerin antiinflamatuvar etkisinin yanında kanserde proliferasyonu inhibe ettiği bildirilmiştir.

Bu tez çalışmasında, NSAİ olan ve COX-1 ve COX-2 enzimlerini inhibe eden piroksikam etkin maddesinin insan prostat kanseri hücre hatlarındaki antikanser etki mekanizmalarının araştırılmıştır. Bu kapsamda PC-3 prostat kanseri hücre hattı kullanılmış olup, piroksikamın söz konusu hücrelerde hücre canlılığı ve hücre döngüsü üzerine etkileri araştırılmıştır.

Piroksikamın PC-3 hücrelerinin 24 saat ve 48 saat sonunda hücre canlılığı üzerine etkisi MTT testi ile belirlenmiş ve 48 saatin sonunda hücre canlılığını etkili bir şekilde inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu bulgular ışığında hücre döngüsünün hangi aşamasında etki gösterdiğinin belirlenebilmesi amacıyla Cell Cycle Assay kiti kullanılmıştır. Piroksikamın PC-3 hücrelerinde hücre döngüsünü S evresinde durdurduğu belirlenmiştir.

Piroksikamın antiproliferatif etkinliğinin belirlenmesini takiben, söz konusu bileşiğin hücrelerde apoptotik etkinliği de çeşitli analiz yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Bu amaçla Annexin V bağlanma yöntemi kullanılmış ve erken apoptotik hücre popülasyonunun anlamlı olarak arttığı sonucuna ulaşılmıştır. Annexin V bağlanmasından elde edilen geç apoptotik ve ölü hücre popülasyonunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir veri elde edilememiştir.

Piroksikamın PC-3 hücrelerinde apoptotik etki gösterdiğinin görülmesinin ardından apoptotik etkinin detaylandırılabilmesi amacıyla hücrelerdeki mitokondriyel potansiyel değişiklikleri ve apoptoza bağlı olarak arttığı bilinen kaspaz düzeyleri tayin edilmiştir. Analizde elde edilen verilerde, hücrelerde total kaspaz düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı görülmüştür.

Piroksikamın söz konusu hücreler üzerinde mitokondri membran potansiyeli üzerine etkisinin araştırılması amacı ile Mitopotential Assay Kiti kullanılmıştır. Piroksikam ile muamele edilmiş PC-3 hücrelerinde kontrol grubuna kıyasla depolarize/canlı hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış görülmüştür. Bunun yanında depolarize/ölü ve ölü hücre popülasyonları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Bu analiz sonucuna göre, piroksikamın PC-3 hücrelerinde mitokondri membranı üzerinde depolarize edici etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalar ve elde edilen veriler doğrultusunda piroksikamın PC-3 hücreleri üzerinde antikanser etkisi olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu noktada yeni araştırmalar için umut vadeci bir bileşik olarak görülmekle birlikte; yapılabilecek farklı çalışmalar için öncü olabileceği düşünülmektedir. Piroksikamın prostat kanseri üzerindeki rolünün daha iyi aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Piroksikam'ın İnsan Prostat Kanseri Hücrelerinde Antikanser Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Kanser ve inflamasyon arasındaki ilişki yıllardır bilinmekle birlikte prostat kanseri ile inflamasyon ve inflamatuvar ajanlar arasındaki ilişki son zamanlarda yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Araştırmalar, inflamasyon tedavisinde etkin olan nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların (NSAİ), prostaglandin sentezini ya siklooksijenaz aktivitesini inhibe etme yetenekleri sayesinde ya da bu mekanizmalardan bağımsız olarak, bazı kanser türlerinde de tedaviye yardımcı olabileceğini göstermiştir. Bununla birlikte son yıllarda yapılan çalışmalar, bazı NSAİ'lerin düzenli kullanımla prostat kanseri riskini azalttığı ya da önlediğini ortaya koymuştur.

Bu tez çalışmasında, NSAİ grubundan bir ilaç olan piroksikamın, insan prostat kanser hücreleri üzerindeki antikanser etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmış ve bu kapsamda, androjen bağımsız PC-3 insan prostat kanser hücreleri üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada, piroksikamın hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi 3-(4,5-dimetiltriazol-2-il).2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) testi ile saptanmıştır. Sitotoksik etkinin gözlemlendiği konsantrasyonlarda, söz konusu hücrelerde, hücre döngüsü ve çeşitli apoptotik etki mekanizmalarının değerlendirilmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Hücreler üzerinde yapılan MTT testi sonucunda, piroksikamın PC-3 hücrelerinde 48. saatte sitotoksik etki gösterdiği saptanmış ve tespit edilen konsantrasyonlarla yapılan hücre döngüsü analiziyle, hücre döngüsünü S evresinde durdurduğu tespit edilmiştir. Piroksikamın söz konusu hücreler üzerindeki apoptotik etkisinin tespiti amacıyla Annexin V bağlanma testi yapılmış ve kontrol grubuna kıyasla elde edilen verilerde erken apoptotik hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir.

Piroksikamın PC-3 hücrelerinde apoptotik etkisinin saptanmasının ardından apoptotik etkinin detaylandırılabilmesi amacı ile hücrelerdeki kaspaz düzeyleri ve mitokondriyel potansiyel değişiklikleri tayin edilmiştir. Piroksikamın bahsi geçen hücreler üzerinde total kaspaz düzeylerini ve mitokondri membran depolarizasyonunu anlamlı olarak arttırdığı sonuçları elde edilmiştir.

Çalışmanın sonuçları, bir nonsteroidal antiinflamatuvar bileşik olan piroksikamın, PC-3 hücrelerinde sitotoksik ve apoptotik etki gösterdiğini ve prostat kanserinde umut vadeci bir bileşik olabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar sözcükler: Apoptoz, Nonsteroidal Antiinflamatuvar İlaçlar, PC-3, Piroksikam, Sitotoksikite.

SUMMARY

The Evaluation of Anticancer Efficiency of Piroxicam in Human Prostate Cancer Cells

Although the relationship between cancer and inflammation has been known since decades, this relationship has been discovered with recent studies. Studies have shown that nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) can assist chemotherapy in certain cancer types, with or without affecting prostaglandin biosynthesis or cyclooxygenase activity. Additionally, recent studies have proven that regular usage of some NSAIDs may prevent prostate cancer or decrease the risk.

In this thesis study, the purpose mainly consists of the assessment the anticancer activity of piroxicam, a member of NSAIDs, against human prostate cancer cells. In this context, androgen-independent PC-3 human prostate cancer cells were used. 3-(4,5-dimethyltriazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) test was implemented to determine cytotoxic activity of piroxicam. At these cells, evaluations of cell cycle and various apoptotic mechanisms were conducted at cytotoxic concentrations.

As a result of MTT analysis on cells, cytotoxic activity of piroxicam in PC-3 cells was determined after 48 hours. Via cell cycle analysis at certain detected concentrations, it has been proven that this compound halts cell cycle at S phase. To determine apoptotic activity of this compound against this cell line, Annexin V test was used. According to the data collected by comparing to the control group, a statistically significant increase has been found.

After evidencing apoptotic activity of piroxicam in PC-3 cells, to add further detail on this activity, caspase levels and mitochondrial potential changes have been analyzed. As a result of these tests, a significant increase of total caspase levels and mitochondrial membran depolarization has been found.

The results of this study shows that piroxicam, which is a nonsteroidal antiinflammatory drug exhibits cytotoxic and apoptotic activity in PC-3 cells and may be a promising drug against prostate cancer.

Keywords: Apoptosis, Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, PC-3, Piroxicam, Cytotoxicity.

KAYNAKLAR

- ADELSTEIN P, BALDWIN JA, FEDRICH J (1979). Cancers of the large bowel: associated disorders in individuals. *Cancer*, **43**: 2553–2557.
- ALSHAFIE GA, ABOU-ISSA HM, SEIBERT K, HARRS RE (2000). Chemotherapeutic evaluation of lecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in a rat mammary tumour model. *Oncology Reports*, **7**: 1377–1381.
- ANG HL, TERGAONKAR, V (2007). Notch and NFκB signaling pathways: do they collaborate in normal vertebrate brain development and function? *BioEssays*, **29**: 1039–1047.
- APARICIO GALLEGO G, DIAZ PRADO S, JIMENEZ FONSECA P, GARCÍA CAMPELO R, CASSINELLO ESPINOSA J, ANTÓN APARICIO LM. (2007) Cyclooxygenase- (COX-2): a molecular target in prostate cancer. *Clin Transl Oncol*, **9(11)**: 694–702.
- BALKWILL F, CHARLES KA, MANTOVANI A (2005). Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*, **7**: 211–217.
- BALKWILL F, MANTOVANI A (2001). Inflammation and cancer: Back to Virchow? *Lancet*, **357**: 539–545.
- BEATTY J (2014). Viral causes of feline lymphoma: Retroviruses and beyond. *The Veterinary Journal*, **201**: 174–180.
- BENNETT A, DEL TACCA M (1975). Proceedings: Prostaglandins in human colonic carcinoma. *Gut*, **16**: 409.
- BERQUIN IM, MIN Y, WU R, WU J, PERRY D, CLÍ-INE JM, THOMAS MJ. THORNBURG T, KULÍ-İK G, SMITH A, EDWARDS IJ, D'AGOSTINO R, ZHANG H, WU H, KANG JX, CHEN YQ (2007). Modulation of prostate cancer genetic risk by omega-3 and omega-6 fatty acids. *J Clin Invest*, **117(7)**: 1866–1875.
- BONIZZI G, KARIN M. (2004) The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol*, **25**: 280–288.

- BOSTWICK DG, BURKE HB, DJAKIEW D, EULING S, HO SM, LANDOLPH J, MORRISON H, SONAWANE B, SHIFFLETT T, WATERS DJ, TIMMS B (2004). Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, **101**: 2371–2490.
- BOTELHO F, PINA F, LUNET N (2010). VEGF and prostatic cancer: a systematic review. *Eur J Cancer Prev*, **19**: 385–92.
- BRANDÃO RD, VEECK J, VAN DE VIJVER KK, LINDSEY P, DE VRIES B, VAN ELSEN CH, BLOK MJ, KEYMEULEN K, AYOUBI T, SMEETS HJ, TJAN-HEIJNEN VC, HUPPERETS PS (2013). A randomised controlled phase II trial of pre-operative celecoxib treatment reveals anti-tumour transcriptional response in primary breast cancer. *Breast Cancer Res*, **15**: R29.
- BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, SIEGEL RL, TORRE LA, JEMAL A (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, **68(6)**: 394–424.
- BYUN S, PARK J, LEE E, LIM S, YU JG, LEE SJ, CHEN H, DONG Z, LEE KW, LEE HJ (2013). Src kinase is a direct target of apigenin against UVB-induced skin inflammation. *Carcinogenesis*, **34**: 397–405.
- CAMPIONE E, PATERNO EJ, CANDI E, FALCONI M, COSTANZA G, DILUVIO L, TERRINONI A, BIANCHI L, ORLANDI A (2015). The relevance of piroxicam for the prevention and treatment of nonmelanoma skin cancer and its precursors. *Drug Des Devel Ther*, **9**: 5843–5850.
- CATALONA WJ, SMITH DS, WOLFERT RL, WANG TJ, RITTENHOUSE HG, RATLIFF TL, NADLER RB (1995). Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA*, **274**: 1214.
- CENTER MM, JEMAL A, LORTET-TIEULENT J, WARD E, FERLAY J, BRAWLEY O, BRAY F (2012). International variation in prostate cancer incidence and mortality rates. *Eur Urol*, **61**: 1079–92.
- CHAI EZP, SIVEEN KS, SHANMUGAM MK, ARFUSO F, SETHI G (2015). Analysis of the intricate relationship between chronic inflammation and cancer. *Biochem J*, **468**: 1–15.

- CHANG L, KARIN M (2001). Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature*, **410**, 37–40.
- CHEN WS, WEI SJ, LIU JM, HSIAO M, KOU-LIN J, YANG WK (2001). Tumor invasiveness and liver metastasis of colon cancer cells correlated with cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and inhibited by a COX-2-selective inhibitor, etodolac. *Int J Cancer*, **91**: 894–899.
- CHU LW, RITCHEY J, DEVESA SS, QURAISHI SM, ZHANG H, HSING AW (2011). Prostate cancer incidence rates in Africa. *Prostate Cancer*, 947870.
- COUSSENS LM, WERB Z (2002). Inflammation and cancer. *Nature*, **420**: 860–867.
- CRAMER DW, HARLOW BL, TITUS-ERNSTOFF L, BOHLKE K, WELCH WR, GREENBERG ER (1998). Over-the counter analgesics and risk of ovarian cancer. *Lancet*. **351**: 104–107.
- CUENDET M, PEZZUTO JM (2000). The role of cyclooxygenase and lipoxygenase in cancer chemoprevention. *Drug Metab Drug Interact*, **17**: 109–157.
- DAVIDSSON S, FIORENTINO M, ANDREN O, FANG F, MUCCI LA, VARENHORST E, FALL K, RIDER JR (2011). Inflammation, focal atrophic lesions, and prostatic intraepithelial neoplasia with respect to risk of lethal prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **20(10)**: 2280–7.
- DE FALCO M, LUCARIELLO A, IAQUINTO S, ESPOSITO V, GUERRA G, DE LUCA A (2015). Molecular mechanisms of *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Journal of Cell Physiology*, **230(8)**: 1702–7.
- DE MARZO AM, PLATZ EA, SUTCLIFFE S, XU J, GRÖNBERG H, DRAKE CG, NAKAI Y, ISAACS WB, NELSON WG (2007). Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer*, **7(4)**: 256–69.
- DEWITT DL, MEADE EA, SMITH WL (1993). PGH synthase isoenzyme selectivity: the potential for safer nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Am J Med*, **95**: 40S.
- DILUVIO L, BAVETTA M, COSTANZA G, ORLANDI A, BIANCHI L, CAMPIONE E (2019). Monitoring treatment response in patients affected by actinic keratosis: Dermoscopic assessment and metalloproteinases evaluation after piroxicam 0.8% and sunfilter cream. *Dermatol Ther*, **32(1)**: e12772.

- DING XZ, TONG WG, ADRIAN TE (2000). Blockade of cyclooxygenase-2 inhibits proliferation and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Anticancer Res*, **20**: 2625–2631.
- Drugs.com [Internet]. Prednisone Information from Drugs.com; c1996-2018 [Updated: 13 February 2018]. Available from: [<https://www.drugs.com/prednisone.html>.]
- FERLAY J, ERVIK M, LAM F, COLOMBET M, MERY L, PIÑEROS M, ZNAOR A, SOERJOMATARAM I, BRAY F (2018). Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>, accessed [02 February 2019].
- FILELLA X, FERNÁNDEZ-GALAN E, BONIFACIO RF, FOJ L (2018). Emerging biomarkers in the diagnosis of prostate cancer. *Pharmgenomics Pers Med*. **11**: 83–94.
- GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*, 2016: **388** (10053):1659-1724.
- GERSHMAN B, VAN HOUTEN HK, HERRIN J, MOREIRA DM, KIM SP, SHAH ND, KARNES RJ (2017). Impact of prostate-specific antigen (PSA) screening trials and revised PSA screening guidelines on rates of prostate biopsy and postbiopsy complications. *Eur Urol*, **71**: 55-65.
- GERSTENBLUTH RE, SEFTEL AD, MACLENNAN GT, RAO RN, CORTY EW, FERGUSON K, RESNICK MI (2002). Distribution of chronic prostatitis in radical prostatectomy specimens with upregulation of bcl-2 in areas of inflammation. *J Urol*, **167**(5): 2267–70.
- GHOSH S, KARIN M (2002). Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. *Cell*, **109**(Suppl.), S81–S96.
- GILROY D.W., COLVILLE-NASH P.R., MCMASTER S., SAWATZKY D.A., WILLOUGHBY D.A. AND LAWRENCE T. (2003) Inducible cyclooxygenase-derived 15-deoxy(Delta)12–14PGJ2 brings about acute inflammatory resolution in rat pleurisy by inducing neutrophil and macrophage apoptosis. *Faseb J*, **17**: 2269–2271.

- GILROY DW, COLVILLE-NASH PR, WILLIS D, CHIVERS J, PAUL-CLARK MJ, WILLOUGHBY DA (1999). Inducible cyclooxygenase may have anti-inflammatory properties. *Nat Med*, **5**: 698–701.
- GIOVANNUCCI E, EGAN KM, HUNTER DJ, STAMPFER MJ, COLDITZ GA, WILLETT WC, SPEIZER FE (1995). Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. *N Engl J Med*, **333**: 609–614.
- GORSKY VA, AGAPOV MA, KHOREVA MV, LEONENKO IV (2015). The effect of lornoxicam on TLR2 and TLR4 messenger RNA expression and tumor necrosis factor- α , interleukin-6, and interleukin-8 secretion in patients with systemic complications of acute pancreatitis. *Pancreas*, **44(5)**: 824–30.
- GUPTA S, ADHAMI VM, SUBBARAYAN M, MACLENNAN GT, LEWIN JS, HAFELI UO, FU P, MUKHTAR H (2002). Dietary supplementation of selective COX-2 inhibitor celecoxib suppresses prostate carcinogenesis in TRAMP Mice, *Proc Am Assoc Cancer Res*, **43**: 671
- HÄCKER H, REDECKE V, BLAGOEV B, KRATCHMAROVA I, HSU LC, WANG GG, KAMPS MP, RAZ E, WAGNER H, HÄCKER G, MANN M, KARIN M (2006). Specificity in Toll-like receptor signaling through distinct effector functions of TRAF3 and TRAF6. *Nature*, **439**: 204–207.
- HANAHAN D, WEINBERG RA (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell* **144**: 646–674.
- HANIF R, PITTAS A, FENG Y, KOUTSOS MI, QIAO L, STAIANO-COICO L, SHIFF SI, RIGAS B (1996). Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on proliferation and on induction of apoptosis in colon cancer cells by a prostaglandin-independent pathway. *Biochemical Pharmacology*, **52**: 237–245.
- HARRIS RE, NAMBOODIRI KK, FARRAR WB (1996). Nonsteroidal antiinflammatory drugs and breast cancer. *Epidemiology*, **7**: 203–205.
- HOFSETH LJ, YING L (2006). Identifying and defusing weapons of mass inflammation in carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta*, **1765**:74–84.
- HOSSAIN MA, KIM DH, JANG JY, KANG YJ, YOON JH, MOON JO, CHUNG HY, KIM GY, CHOI YH, COPPLE BL, KIM ND (2012). Aspirin enhances doxorubicin-

- induced apoptosis and reduces tumour growth in human hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo. *International Journal of Oncology*, **40(5)**: 1636–1642.
- HSING AW, TSAO L, DEVESA SS (2000). International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *Int J Cancer*, **85(1)**: 60–67.
- JETTER N, CHANDAN N, WANG S, TSOUKAS M (2018). Field cancerization therapies for Management of Actinic Keratosis: A narrative review. *American Journal of Clinical Dermatology*, **19**: 543–557.
- JIAO H, REN F (2009). Pretreatment with lornoxicam, a cyclooxygenase inhibitor, relieves postoperative immuno-suppression after total abdominal hysterectomy, *Tohoku J Exp Med*, **219(4)**: 289-94.
- JIAO J, ISHIKAWA TO, DURLAO DS, NORRIS PC, MAGYAR CE, MIKULEC C, CATAPANG A, DENNIS EA, FISCHER SM, HERSCHMAN HR (2014). Targeted deletion and lipidomic analysis identify epithelial cell COX-2 as a major driver of chemically induced skin cancer. *Mol Cancer Res*, **12**: 1677–1688.
- JOANNE RB, RAYMOND ND (2004). Cyclooxygenase as a target in lung cancer. *Clin. Cancer Res.* **10**:4266.
- KAMATA H, HONDA S, MAEDA S, CHANG L, HIRATA H, KARIN M (2005). Reactive oxygen species promote TNF-alpha induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases. *Cell*, **120**: 649–661.
- KAMIJO T, SATO T, NAGATOMI Y, KITAMURA T (2001). Induction of apoptosis by cyclooxygenase-2 inhibitors in prostate cancer cell lines. *International Journal of Urology*, **8 (7)**: S35–S39, 2001.
- KANDA A, EBIHARA S, TAKAHASHI H, SASAKI H (2009). Loxoprofen sodium suppresses mouse tumor growth by inhibiting vascular endothelial growth factor. *Acta Oncologica*, **42**: 1, 62–70.
- KANG NJ, LEE KW, SHIN BJ, JUNG SK, HWANG MK, BODE AM, HEO YS, LEE HJ, DONG Z (2009). Caffeic acid, a phenolic phytochemical in coffee, directly inhibits Fyn kinase activity and UVB-induced COX-2 expression. *Carcinogenesis*, **30**: 321–330.

- KARIN M, GALLAGHER E (2005). From JNK to pay dirt: jun kinases, their biochemistry, physiology and clinical importance. *IUBMB Life*, **57**: 283–295.
- KARIN M, LAWRENCE T, NIZET V (2006). Innate immunity gone awry: linking microbial infections to chronic inflammation and cancer. *Cell*, **124**: 823–835.
- KARIN M. (1995) The regulation of AP-1 activity by mitogen activated protein kinases. *J Biol Chem*, **270**: 16483–16486.
- KAWABE M, SHIBATA MA, SANO M, TAKESADA Y, TAMANO S, ITO N, SHIRAI T (1997). Decrease of prostaglandin E2 and 5-bromo-20 deoxyuridine labeling but not prostate tumor development by indomethacin treatment of rats given 3,20-dimethyl-4 aminobiphenyl and testosterone propionate. *Jpn J Cancer Res*, **88**: 350-355.
- KHUDER SA, MUTGI AB (2001). Breast cancer and NSAID use: a meta-analysis. *British Journal of Cancer*, **84**: 1188–1192.
- KIM SS, OH OJ, MIN HY, PARK EJ, KIM Y, PARK HJ, NAM HAN Y, LEE SK (2003). Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells, *Life Sci*. **73**: 337–348.
- KIRSCHENBAUM A, LIU X, YAO S, LEVINE AC (2001). The role of cyclooxygenase-2 in prostate cancer. *Urology*, **58**: 127–131.
- KIRSCHENBAUM A, LIU X, YAO S, LEVINE AC (2001). The role of cyclooxygenase-2 in prostate cancer. *Urology*, **58 (2 Suppl. 1)**: 127–31.
- KOLONEL LN (2001). Fat, meat, and prostate cancer. *Epidemiol Rev*, **23(1)**: 72–81.
- KOLONEL LN, ALTSHULER D, HENDERSON BE (2004). The multiethnic cohort study: exploring genes, lifestyle and cancer risk. *Nat Rev Cancer*, **4(7)**: 519–527.
- KULKARNI S, RADER JS, ZHANG F, LIAPIS H, KOKI AT, MASFERRER JL, SUBBARAMAIAH K, DANNENBERG AJ (2001). Cyclooxygenase-2 is overexpressed in human cervical cancer. *Clinical Cancer Research*, **7(2)**: 429–434.
- KUNDU JK, SURH YJ (2012). Emerging avenues linking inflammation and cancer. *Free Radic Biol Med*, **52**: 2013–2037.
- KUO YY, JIM WT, SU LC, CHUNG CJ, LIN CY, HUO C, TSENG JC, HUANG SH, LAI CJ, CHEN BC, WANG BJ, CHAN TM, LIN HP, CHANG WS, CHANG CR, CHUU

- CP (2015). Caffeic acidphenethyl ester is a potential therapeutic agent for oral cancer. *Int. J. Mol.Sci.* **16**: 10748–10766.
- KYRIAKIS JM, AVRUCH J (2001). Mammalian mitogenactivated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiol Rev*, **81**: 807–869.
- L. QU, LIU B (2015). Cyclooxygenase-2 promotes metastasis in osteosarcoma. *Cancer Cell Int*, **15**: 69.
- LANDSKRON G, DE LA FUENTE M, THUWAJIT P, THUWAJIT C, HERMOSO MA (2014). Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *Journal of Immunology Research*, Article ID 149185.
- LAWRENCE T, GILROY DW, Chronic inflammation: a failure of resolution?, *Int. J. Exp. Path.* (2007), **88**, 85–94.
- LAWRENCE T, GILROY DW, COLVILLE-NASH PR, WILLOUGHBY DA (2001). Possible new role for NF-kappaB in the resolution of inflammation. *Nat Med*, **7**: 1291–1297, 787–795.
- LEAHY KM, ORNBERG RL, WANG Y, ZWEIFEL BS, KOKI AT, MASFERRER JL (2002). Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells in vivo. *Cancer Research*, **62**: 625– 631.
- LEVY DE, DARNELL JR. JE (2002) STATs: transcriptional control and biological impact. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **3**: 651–662.
- LI H, YANG B, HUANG J, LIN Y, XIANG T, WAN J, LI H, CHOUAIB S, REN G (2015). Cyclooxygenase-2 in tumor-associated macrophages promotes breast cancer cell survival by triggering a positive-feedback loop between macrophages and cancer cells. *Oncotarget*, **6**: 29637–29650.
- LI M, WU X, XU XC (2001). Induction of apoptosis in colon cancer cells by cyclooxygenase-2 inhibitor NS398 through a cytochrome c-dependent pathway. *Clin Cancer Res*, **7**: 1010–1016.
- LI Q, VERMA IM (2002). NF-kappaB regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol*, **2**: 725–734.

- LIU XH, KIRSCHENBAUM A, LU M, YAO S, KLAUSNER A, PRESTON C, HOLLAND JF, LEVINE AC (2002). Prostaglandin E(2) stimulates prostatic intraepithelial neoplasia cell growth through activation of the interleukin-6/GP130/STAT-3 signaling pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, **290**: 249–255.
- LOFTUS EV JR (2006). Epidemiology and risk factors for colorectal dysplasia and cancer in ulcerative colitis. *Gastroenterol Clin North*, **35**: 517–31.
- LUCIA MS, TORKKO KC (2004). Inflammation as a target for prostate cancer chemoprevention: pathological and laboratory rationale. *J Urol*, **171**: 30–4.
- MANTOVANI A (2010). Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Current Molecular Medicine*, **10**: 4, 369–373.
- MANTOVANI A, ALLAVENA P, SICA A, BALKWILL F (2008). Cancer related inflammation. *Nature*, **454**: 7203, 436–444.
- MARKOZANNES G, TZOULAKI I, KARLI D, EVANGELOU E, NTZANI E, GUNTER MJ, NORAT T, IOANNIDIS JP, TSILIDIS KK (2016). Diet, body size, physical activity and risk of prostate cancer: An umbrella review of the evidence. *Eur J Cancer*, **69**: 61–69.
- MASFERRER JL, LEAHY KM, KOKI AT, ZWEIFEL BS, SETTLE SL, WOERNER BM, EDWARDS DA, FLICKINGER AG, MOORE RJ, SEIBERT K (2000). Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res*, **60**: 1306–1311.
- MEADE EA, SMITH WL, DEWITT DL (1993). Differential inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase (cyclooxygenase) isozymes by aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Biol Chem*, **268**(9): 6610.
- MIRSHAFIEY A, VAEZZADEH F, KHORRAMIZADEH MR, SAADAT F (2004). Effect of piroxicam on matrix metalloproteinase 2 and apoptosis. *Int J Tissue React*, **26**(1-2): 1-7.
- MISRON NA, LOOI LM, NIK MUSTAPHA NR (2015). Cyclooxygenase-2 expression in invasive breast carcinomas of no special type and correlation with pathological profiles suggest a role in tumorigenesis rather than cancer progression. *Asian Pac J Cancer Prev*, **16**: 1553–1558.

- MOLINA MA, SITJA-ARNAU M, LEMOINE MG, FRAZIER ML, SINICROPE FA (1999). Increased cyclooxygenase-2 expression in human pancreatic carcinomas and cell lines: growth inhibition by nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cancer Research*, **59**(17): 4356–4362.
- MORAN EM (2002). Epidemiological and clinical aspects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cancer risks. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*, **21**: 193-201.
- MOTTET N, BELLMUNT J, BOLLA M, BRIERS E, CUMBERBATCH MG, DE SANTIS M, FOSSATI N, GROSS T, HENRY AM, JONIAU S, LAM TB, MASON MD, MATVEEV VB, MOLDOVAN PC, VAN DEN BERGH RCN, VAN DEN BROECK T, VAN DER POEL HG, VAN DER KWAST TH, ROUVIÈRE O, SCHOOTS IG, WIEGEL T, CORNFORD P (2017). EAU-ESTRO-SIOG guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent. *Eur Urol*, **71**: 618e29.
- MUSCAT JE, CHEN SQ, RICHIE JP JR, ALTORKI NK, CITRON M, OLSON S, NEUGUT AI, STELLMAN SD (2003). Risk of lung carcinoma among users of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Cancer*, **97**: 1732–1736.
- NARISAWA T, SATO M, TANI M, KUDO T, TAKAHASHI T, GOTO A (1981). Inhibition of development of methylnitrosourea-induced rat colon tumors by indomethacin treatment. *Cancer Research*, **41**: 1954–1957.
- NELSON JE, HARRIS RE (2000). Inverse association of prostate cancer and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): results of a case–control study. *Oncol Rep*, **7**: 169-170.
- NELSON WG, DE MARZO AM, DEWEESE TL, ISAACS WB (2004). The role of inflammation in the pathogenesis of prostate cancer. *J Urol*, **172**: 6–11.
- NORRISH AE, JACKSON RT, MCRAE CU (1998) Non-steroidal anti-inflammatory drugs and prostate cancer progression. *International Journal of Cancer*, **77**: 511–515.
- O’SHEA JJ, GADINA M, SCHREIBER RD (2002). Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell*, **109**(Suppl.): 121–131.

- OHNISHI S, MA N, THANAN R, PINLAOR S, HAMMAM O, MURATA M, KAWANISHI S (2013). DNA damage in inflammation-related carcinogenesis and cancer stem cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 387014.
- ORSTED DD, BOJESSEN SE, NIELSEN SF, NORDESTGAARD BG (2011). Association of clinical benign prostate hyperplasia with prostate cancer incidence and mortality revisited: A nationwide cohort study of 3,009,258 men. *EurUrol*. **60**:691–8.
- OSHIMA M, DINCHUK JE, KARGMAN SL, OSHIMA H, HANCOCK B, KWONG E, TRZASKOS JM, EVANS JF, TAKETO MM (1996). Suppression of intestinal polyposis in Apc delta716 knockout mice by inhibition of cyclooxygenase 2 (COX-2). *Cel.*, **87**:803–809.
- PANIGRAHI GK, PRAHARAJ PP, KITTAHAKA H, MRIDHA AR, BLACK OM, SINGH R, MERCER R, VAN BOKHOVEN A, TORKKO KC, AGARWAL C, AGARWAL R, ABD ELMAGEED ZY, YADAV H, MISHRA SK, DEEP G (2019). Exosome proteomic analyses identify inflammatory phenotype and novel biomarkers in African American prostate cancer patients. *Cancer Med*. **8(3)**:1110-1123.
- PARK JM, GRETEN FR, WONG A, WESTRICK RJ, ARTHUR JS, OTSU K, HOFFMANN A, MONTMINY M, KARIN M (2005). Signaling pathways and genes that inhibit pathogen-induced macrophage apoptosis-CREB and NF-kappaB as key regulators. *Immunity*, **23**: 319–329.
- PARK WS, LEE HK, LEE JY, YOO NJ, KIM CS, KIM SH (1996). p53 mutations in solar keratoses. *Hum Pathol*. **27(11)**:1180-4.
- PARTIN AW, CATALONA WJ, SOUTHWICK PC, SUBONG EN, GASIOR GH, CHAN DW (1996). Analysis of percent free prostate-specific antigen (PSA) for prostate cancer detection: Influence of total PSA, prostate volume, and age. *Urology*, --suppl, **48**: 55.
- PIENTA KJ, ESPER PS (1993). Risk factors for prostate cancer. *Ann Intern Med*. **118(10)**:793–803.
- PLATZ EA, DE MARZO AM (2004). Epidemiology of inflammation and prostate cancer. *J Urol*, **171**:S36–40.

- POLLARD M, LUCKERT PH (1980). Indomethacin treatment of rats with dimethylhydrazine-induced intestinal tumors. *Cancer treatment reports*. **64**:1323–1327.
- POLLARD M, LUCKERT PH (1986). The beneficial effects of diphosphonate and piroxicam on the osteolytic and metastatic spread of rat prostate carcinoma cells. *Prostate*, **8**: 81-86.
- PRUTHI RS, DERKSEN E, GASTON K (2003). Cyclooxygenase-2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors: a review. *J Urol* **169**(6):2352–9.
- QIAO L, KOZONI V, TSIOLIAS GJ, KOUTSOS MI, HANIF R, SHIFF SJ, RIGAS B (1995). Selected eicosanoids increase the proliferation rate of human colon carcinoma cell lines and mouse colonocytes in vivo. *Biochimica et biophysica acta*. **1258**:215–223.
- RAI N, SARKAR M, RAHA S (2015). Piroxicam, a traditional non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) causes apoptosis by ROS mediated Akt activation. *Pharmacological Reports*, **67**:1215–1223
- RAKOFF-NAHOUM S (2006). Why cancer and inflammation?. *Yale Journal of Biology and Medicine*, **79**:123–130.
- RAYBURN E, EZELL SJ, ZHANG R (2009). Anti-inflammatory agents for cancer therapy. *Molecular and Cellular Pharmacology*, **1**: 29–43.
- ROBERTS HR, SMARTT HJM, GREENHOUGH A, MOORE AE, WILLIAMS AC, PARASKEVA C (2011). Colon tumour cells increase PGE2 by regulating COX-2 and 15-PGDH to promote survival during the microenvironmental stress of glucose deprivation. *Carcinogenesis*, **32**: 1741–1747.
- ROBERTS RO, JACOBSON DJ, GIRMAN CJ, RHODES T, LIEBER MM, JACOBSEN SJ (2002). A population-based study of daily nonsteroidal anti-inflammatory drug use and prostate cancer. *Mayo Clin Proc*, **77**: 219-225
- ROSENBLATT KA, WICKLUND KG (2001). Stanford JL. Sexual factors and the risk of prostate cancer. *Am J Epidemiol*, **153**:1152–8.

- ROTHMAN I, STANFORD JL, KUNIYUKI A, BERGER RE (2004). Self-report of prostatitis and its risk factors in a random sample of middle-aged men. *Urology*, **64**:876-879.
- SCHREINEMACHERS DM, EVERSON RB (1994). Aspirin use and lung, colon, and breast cancer incidence in a prospective study. *Epidemiology*; **5**:138–146.
- SCHRÖDER FH, HUGOSSON J, ROOBOL MJ, TAMMELA TL, ZAPPA M, NELEN V, KWIATKOWSKI M, LUJAN M, MÄÄTTÄNEN L, LILJA H, DENIS LJ, RECKER F, PAEZ A, BANGMA CH, CARLSSON S, PULITI D, VILLERS A, REBILLARD X, HAKAMA M, STENMAN UH, KUJALA P, TAARI K, AUS G, HUBER A, VAN DER KWAST TH, VAN SCHAIK RH, DE KONING HJ, MOSS SM, AUVINEN A. ERSPEC INVESTIGATORS (2014). Screening and prostate cancer mortality: results of the European randomised study of screening for prostate cancer (ERSPEC) at 13 years of follow-up. *Lancet (London, England)*, **384**:2027e35.
- SEER Cancer Statistics Review, 1975-2013 [Internet]. National Cancer Institute, Bethesda, MD. 2016. Accessed 04 February 2019. [<https://seer.cancer.gov/explorer/application.php>]. SEER, 2018.
- SEERAM NP, ADAMS LS, ZHANG Y, LEE R, SAND D, SCHEULLER HS, HEBER D (2006). Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *J Agric Food Chem*, **54**: 9329–9339.
- SETHI G, SHANMUGAM MK, RAMACHANDRAN L, KUMAR AP, TERGAONKAR V (2012). Multifaceted link between cancer and inflammation. *Biosci. Rep.* **32**:1–15
- SHARPE CR, COLLET JP, MCNUTT M, BELZILE E, BOIVIN JF, HANLEY JA (2000). Nested casecontrol study of the effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on breast cancer risk and stage. *British journal of cancer.* **83**:112–120.
- SHENG H, SHAO J, WASHINGTON MK, DUBOIS R (2001). Prostaglandin E2 increases growth and motility of colorectal carcinoma cells. *J. Biol. Chem.* **276**: 18075–18081.
- SICA A, ALLAVENA P, MANTOVANI A (2008). Cancer related inflammation: the macrophage connection. *Cancer Lett.* **267**: 204–215

- SMALLEY WE, DUBOIS RN (1997). Colorectal cancer and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Adv. Pharmacol.* **39**: 1–20.
- SMITH WL, GARAVITO RM, DEWITT DL (1996). Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2. *J. Biol. Chem.* **271**: 33157–33160.
- SMITH WL, DEWITT DL, GARAVITO RM (2000). Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annual Review of Biochemistry*, **69** (1): 145–182.
- SOSLOW RA, DANNENBERG AJ, RUSH D, WOERNER BM, KHAN KN, MASFERRER J, KOKI AT (2000). COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer*, **89**(12): 2637–2645.
- STAMEY TA, KABALIN JN, MCNEAL JE, JOHNSTONE IM, FREIHA F, REDWINE EA, YANG N (1989). Prostate-specific antigen in the diagnosis and treatment of adenocarcinoma of the prostate. II. Radical prostatectomy treated patients. *J Urol*, **141**(5):1076-83
- SUTCLIFFE S, PONTARI MA, (2016) PROSTAT CANCER SCIENCE AND CLINICAL PRACTICE, 2nd Ed. “Bölüm 2”
- TAJAMUL H, SANJAY G, HASAN M (2003). Cyclooxygenase-2 and prostate carcinogenesis. *Cancer Letters*: **191**: 125–135.
- TAKETO MM (1998). COX-2 and colon cancer. *Inflamm. Res.* **47**: S112–S116.
- TAKETO MM (1998). Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (part I). *J Natl Cancer Inst*, **90**: 529-536
- THUN M J, NAMBOODIRI M M, HEATH CW JR (1991). Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer. *N. Engl. J. Med.* **325**:1593–1596.
- THUN MJ, HENLEY SJ, PATRONO C (2002). Nonsteroidal antiinflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, **94**(4): 252–266.
- THUN MJ, NAMBOODIRI MM, CALLE EE, FLANDERS WD, HEATH CW JR (1993). Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer research*. **53**:1322–1327.
- TJANDRAWĪNATA RR, HUGHES-FULFORD M (1997). Up-regulation of cyclooxygenase-2 by product-prostaglandin E2. *Adv. Exp. Med. Biol.* **407**:163–170.

- TONG X, MIRZOEVA S, VELICEASA D, BRIDGEMAN BB, FITCHEV P, CORNWELL ML, CRAWFORD SE, PELLING JC, VOLPERT OV (2014). Chemopreventive apigenin controls UVB-induced cutaneous proliferation and angiogenesis through HuR and thrombospondin-1. *Oncotarget*, **5**: 11413–11427.
- TSUJII M, DUBOIS RN (1995). Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*, **83**: 493–501.
- VERBEECK RK, RICHARDSON CJ, BLOCKA KL (1986). Clinical pharmacokinetics of piroxicam. *J Rheumatol*, **13**(4):789-96.
- VOGT T, MCCLELLAND M, JUNG B, POPOVA S, BOGENRIEDER T, BECKER B, RUMPLER G, LANDTHALER M, STOLZ W (2001). Progression and NSAID-induced apoptosis in malignant melanomas are independent of cyclooxygenase. II. *Melanoma research*. **11**: 587–599.
- WANG D, DUBOIS RN (2010). Eicosanoids and cancer. *Nat Rev Cancer*, **10**: 181–193.
- WANG D, FU L, SUN H, GUO L, DUBOIS RN (2015). Prostaglandin E2 promotes colorectal cancer stem cell expansion and metastasis in mice. *Gastroenterology*, **149**: 1884–1895.
- WANG D, GUO XZ, LI HY, ZHAO JJ, SHAO XD, WU CY (2014). Prognostic significance of cyclooxygenase-2 protein in pancreatic cancer: a meta-analysis, *Tumour Biol*. **35**: 10301–10307.
- WANG W, BERGH A, DAMBER JE (2009). Morphological transition of proliferative inflammatory atrophy to high-grade intraepithelial neoplasia and cancer in human prostate. *Prostate*, **69**(13): 1378–86.
- WARIS G, AHSAN H (2006). Reactive oxygen species: Role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of Carcinogenesis*, **5**: 14.
- WILLIAMS CS, MANN M, DUBOIS RN (1999). The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*, **18**(55): 7908–16.
- WILSON KM, GIOVANNUCCI EL, MUCCI LA (2012). Lifestyle and dietary factors in the prevention of lethal prostate cancer. *Asian J Androl*. **14**(3):365–374.

- WINZEN R, GOWRISHANKAR G., BOLLIG F, REDICH N, RESCH K, HOLTMANN H (2004). Distinct domains of AU-rich elements exert different functions in mRNA destabilization and stabilization by p38 mitogen-activated protein kinase or HuR. *Mol. Cell. Biol*, **24**: 4835–4847.
- WISHART DS, FEUNANG YD, GUO AC, LO EJ, MARCU A, GRANT JR, SAJED T, JOHNSON D, LI C, SAYEEDA Z, ASSEMPOUR N, IYNKKARAN I, LIU Y, MACIEJEWSKI A, GALE N, WILSON A, CHIN L, CUMMINGS R, LE D, PON A, KNOX C, WILSON M (2018). DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018.
- WOLK A. (2005). Diet, lifestyle and risk of prostate cancer. *Acta Oncologica*, **44(3)**: 277-281.
- Wu K, Fukuda K, Xing F, Zhang Y, Sharma S, Liu Y, Chan MD, Zhou X, Qasem SA, Pochampally R, Mo YY, Watabe K (2015). Roles of the cyclooxygenase 2 matrix metalloproteinase 1 pathway in brain metastasis of breast cancer. *J Biol Chem*, **290**: 9842–9854.
- XIANG S, SUN Z, HE Q, YAN F, WANG Y, ZHANG J (2009). Aspirin inhibits ErbB2 to induce apoptosis in cervical cancer cells. *Medical Oncology*, **27(2)**: 379–387.
- XU XC (2002). COX-2 inhibitors in cancer treatment and prevention, a recent development. *Anticancer Drugs*, **13**: 127-137
- YAO M, ZHOU W, SANGHA S, ALBERT A, CHANG AJ, LIU TC, WOLFE MM (2005). Effects of nonselective cyclooxygenase inhibition with low-dose ibuprofen on tumor growth, angiogenesis, metastasis, and survival in a Mouse model of colorectal cancer. *Clinical Cancer Research*, **11(4)**: 1618–1628.
- YARLA NS, BISHAYEE A, VADLAKONDA L, CHINTALA R, DUDDUKURI GR, REDDANNA P, DOWLURU KS (2016). Phospholipase A2 isoforms as novel targets for prevention and treatment of inflammatory and oncologic diseases. *Curr Drug Targets*, **17(16)**: 1940-1962.
- ZAMARRON BF, CHEN W (2011). Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression. *International Journal of Biological Sciences*, **7**: 5, 651–658.

ZARUBIN T, HAN J (2005). Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. *Cell. Res.* **15**: 11–18.

ZHA S, YEGNASUBRAMANIAN V, NELSON WG, ISAACS WB, DE MARZO AM (2004). Cyclooxygenases in cancer: progress and perspective. *Cancer Lett.* **215**:1–20.



ÖZGEÇMİŞ

I. Bireysel Bilgiler

Adı	Cemile
Soyadı	Şahiner
Doğum Yeri ve Tarihi	Afyonkarahisar, 01.26.1993
Uyruğu	T.C.
Medeni Durumu	Bekar
İletişim Adresi	cemilesahiner@gmail.com
Cep Telefonu	0534 328 5893

II. Eğitim

- 2017- Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı (Yüksek Lisans)
- 2011- 2017 Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi (Lisans)
- 2015- 2016 Università degli Studi di Napoli Federico II - Lisans Eğitimi- Erasmus Programı
- 2007-2008 Afyonkarahisar Milli Piyango Anadolu Lisesi

III. Ünvanları

Eczacı

IV. Mesleki Deneyimi

Ocak 2018 -	T.C. Sağlık Bakanlığı Kamu Hastaneleri Genel Müdürlüğü Tedarik Planlama, Stok ve Lojistik Yönetimi Daire Başkanlığı Hastane Eczacılığı Yönetim Birimi Aldığı görev: Eczacı
Haziran 2017 - 2018	Ankara Beypazarı Devlet Hastanesi Aldığı görev: Sorumlu Eczacı
Haziran 2016 - 2017	Farma Team Farmasötik ve Tıbbi Ürünler Eğitim Araştırma Müşavirlik Ltd. Şti. Aldığı Görev: Ruhsatlandırma Birimi Çalışanı