

T.C.  
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TEMEL ONKOLOJİ VE KANSER BİYOLOJİSİ  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE  
*CENTELLA ASIATICA*'NIN HÜCRE ÖLÜMÜ  
ÜZERİNE ETKİLERİ

FURKAN DİLEK  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Kemal ERGİN

AYDIN - 2022

## KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Temel Onkoloji ve Kanser Biyolojisi Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Furkan DİLEK tarafından hazırlanan “Prostat Kanseri Hücrelerinde *Centella Asiatica*’nın Hücre Ölümü Üzerine Etkileri” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 02/08/2022

Üye (T.D.)	: Prof. Dr. Kemal ERGİN	Aydın Adnan	.....
		Menderes Üniversitesi	
Üye	: Prof. Dr. Gökay BOZKURT	Aydın Adnan	.....
		Menderes Üniversitesi	
Üye	: Prof. Dr. Meltem KURUŞ	İzmir Katip Çelebi	.....
		Üniversitesi	

### ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün ..... tarih ve ..... sayılı oturumunda alınan ..... nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen akademik danışmanım sayın Prof. Dr. Kemal Ergin'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen sayın Rahmi Çetinkaya'ya ve Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Gökay Bozkurt'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen annem Ayşe Dilek'e, babam Rafet Dilek'e, kardeşim Osman Dilek'e ve abim Mustafa Dilek'e minnetlerimi sunar, sonsuz teşekkür ederim.

Son olarak ülkemizin gençlerinden umudunu asla kaybetmemiş, içinde bulunduğu ortam ve koşullara rağmen üstün bir kararlılık göstererek, bizlere bu güzel toprakları vatan kılan Şanlı Önder Gazi Mustafa Kemal Atatürk'e ve silah arkadaşlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER .....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
RESİMLER DİZİNİ.....	vii
TABLOLAR DİZİNİ .....	viii
ÖZET .....	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	2
2.1. Prostat Bezi .....	2
2.1.1. Prostat Bezinin Klinik Önemi .....	3
2.1.2. Prostat Kanseri Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi.....	8
2.1.3. Prostat Kanseri Tedavisinde Kullanılan Bir Kemoterapötik: Dosetaksel .....	9
2.1.4. Prostat Kanserinin İmmünogenomik Alt Tipleri.....	9
2.1.5. Prostat Kanserinde Epigenetik Değişiklikler .....	11
2.2. <i>Centella Asiatica</i> .....	12
2.2.1. <i>Centella Asiatica</i> 'nın Önemli Kimyasal Bileşikleri .....	13
2.2.2. <i>Centella Asiatica</i> 'nın Taksonomik Sınıflandırılması.....	14
2.2.3. <i>Centella Asiatica</i> 'nın Hücre Ölümü Üzerine Etkisi .....	15
2.3. Anneksin-V Tespitinde Flow Sitometri .....	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	19
3.1. Gereç .....	19
3.1.1. Cihazlar .....	19

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	19
3.1.3. Hücre Hattı	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Hücre Kültürü	20
3.2.2. MTS/PMS Testi	21
3.2.3. Flow Sitometri Analizi	22
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme	22
4. BULGULAR	23
4.1. IC <sub>50</sub> Değerleri	23
4.1.1. Dosetaksiel IC <sub>50</sub> Değeri	23
4.1.2. <i>Centella Asiatica</i> IC <sub>50</sub> Değeri	23
4.2. Kombinasyon MTS Sonuçları	24
4.3. Flow Sitometri Sonuçları	24
4.3.1 Kontrol Grubu Flow Sitometri Sonuçları	24
4.3.2. Dosetaksiel Grubu Flow Sitometri Sonuçları	25
4.3.3. <i>Centella Asiatica</i> Grubu Flow Sitometri Sonuçları	25
4.3.4. Kombinasyon Grubu Flow Sitometri Sonuçları	26
4.4. İstatistiksel Sonuçlar	26
4.4.1. Canlı Hücre Sonuçları	26
4.4.2. Erken Apoptoz Sonuçları	27
4.4.3. Geç Apoptoz Sonuçları	27
4.4.4. Toplam Apoptoz Sonuçları	28
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	32
KAYNAKLAR	33
BİLİMSEL ETİK BEYANI	37
ÖZ GEÇMİŞ	38

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>BRCA1</b>	: Meme Kanseri Tip-1 Duyarlılık Proteini
<b>BRCA2</b>	: Meme Kanseri Tip-2 Duyarlılık Proteini
<b>CDK12</b>	: Siklin Bağımlı Kinaz 12
<b>DMBA</b>	: 7,12-Dimetilbenz[a]antrasen
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>DNMT</b>	: DNA Metiltransferaz
<b>EMT</b>	: Epitelyal-Mezenkimal Geçiş
<b>FITC</b>	: Floresein İzotiyosiyanat
<b>hCG</b>	: İnsan Koryonik Gonadotropin
<b>HDAC</b>	: Histon Deasetilaz
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: İnterlökin-1 $\beta$
<b>PHI</b>	: Prostat Sağlık İndeksi
<b>PI</b>	: Propidiyum İyodür
<b>PSA</b>	: Prostat Spesifik Antijen
<b>TNF-alfa</b>	: Tümör Nekroz Faktör-alfa
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	<i>Centella Asiatica</i> 'da Bulunan Başlıca Pentasiklik Triterpenler .....	14
Şekil 2.	Dosetaksiel IC <sub>50</sub> Değeri .....	23
Şekil 3.	<i>Centella asiatica</i> IC <sub>50</sub> Değeri .....	23
Şekil 4.	Kombinasyon MTS Sonuçları .....	24
Şekil 5.	Kontrol Grubu Flow Sitometri Sonuçları .....	24
Şekil 6.	Dosetaksiel Grubu Flow Sitometri Sonuçları .....	25
Şekil 7.	<i>Centella Asiatica</i> Grubu Flow Sitometri Sonuçları .....	25
Şekil 8.	Kombinasyon Grubu Flow Sitometri Sonuçları .....	26
Şekil 9.	Canlı Hücre Sonuçları .....	26
Şekil 10.	Erken Apoptoz Sonuçları .....	27
Şekil 11.	Geç Apoptoz Sonuçları .....	27
Şekil 12.	Toplam Apoptoz Sonuçları .....	28

## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b>	DU145 Kanser Hücre Hattının Mikroskopik Görüntüsü .....	20
-----------------	---	----



## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> <i>Centella Asiatica</i> 'da Bulunan Başlıca Triterpen Saponosidler .....	14
---	----

## ÖZET

### PROSTAT KANSERİ HÜCRELERİNDE *CENTELLA ASIATICA*'NIN HÜCRE ÖLÜMÜ ÜZERİNE ETKİLERİ

**Dilek F. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ve Kanser Biyolojisi Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2022.**

**Amaç:** Bu araştırma prostat kanseri hücrelerinde *Centella asiatica*'nın hücre ölümü üzerinde etkisini incelemek amacıyla yapılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Araştırma, DU145 hücre hattı üzerinde *Centella asiatica*'nın hücre ölüm etkinliğini ölçmek üzere yapıldı. Çalışmamızda prostat kanserinde tedavisinde kullanılan dosetaksel ajanının hücre ölüm etkinliği ve *Centella asiatica* ile olan kombinasyonu halinde meydana gelebilecek etkileri de analiz edildi. Dosetaksel ve *Centella asiatica* için MTS/PMS analizi yapılarak hücre canlılığı ve doz belirlemesi yapıldı. Daha sonra hücre ölüm yollarından biri olan apoptozun erken evresinde meydana gelen membran değişimini analiz etmek için Anneksin-V yöntemi kullanıldı. Kontrol, dosetaksel, *Centella asiatica* ve kombinasyon grupları prostat kanseri hücre hattı (DU145) ile muamele edildi ve üç tekrarlı olarak Muse Cell Analyzer cihazı ile analiz edildi. Canlılık ve ölüm oranları yüzdesel olarak SPSS programı ile aritmetik ortalamaları alınarak grafik haline getirildi.

**Bulgular:** Araştırmamızda *Centella asiatica*'nın hücre canlılığı üzerindeki etkisi diğer gruplara göre önemli ölçüde bir fark oluşturmamıştır. Erken apoptozda *Centella asiatica* grubu kontrol grubuna göre yaklaşık üç kat, kombinasyon grubu ise yaklaşık iki kat artış göstermiştir. Geç apoptozda *Centella asiatica* grubu kontrol grubuna göre önemli bir oranda artış gösterirken kombinasyon grubu yaklaşık iki kat artış göstermiştir. Toplam apoptozda ise *Centella asiatica* ve kombinasyon grupları kontrol grubuna göre iki katından daha fazla bir artış göstermiştir.

**Sonuç:** Bu çalışmada *Centella asiatica*'nın prostat kanseri hücrelerinde güçlü apoptoz uyararı olduğu ve diğer kemoterapötiklerle kombine edilmesi halinde hücre ölümünü kuvvetli bir şekilde arttıracığı bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Hücre Ölümü, Prostat Kanseri, Apoptoz, *Centella asiatica*, Dosetaksel.

## ABSTRACT

### THE EFFECTS OF *CENTELLA ASIATICA* ON CELL DEATH IN PROSTATE CANCER CELLS

**Dilek F. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Basic Oncology and Cancer Biology Program, Master Thesis, Aydın, 2022.**

**Objective:** This research was carried out to examine the effect of *Centella asiatica* on cell death in prostate cancer cells.

**Material and Methods:** The research was carried out to measure the cell death efficiency of *Centella asiatica* on the DU145 cell line. In our study, the cell death efficiency of the docetaxel agent used in the treatment of prostate cancer and the effects that may occur in combination with *Centella asiatica* were also analyzed. Cell viability and dose were determined by MTS/PMS analysis for docetaxel and *Centella asiatica*. Then, the Annexin-V method was used to analyze the membrane change occurring in the early stage of apoptosis, one of the cell death pathways. Control, docetaxel, *Centella asiatica* and combination groups were treated with the prostate cancer cell line (DU145) and analyzed in triplicate with the Muse Cell Analyzer. Vitality and mortality rates were graphed as percentages by taking their arithmetic averages with the SPSS program.

**Results:** In our study, the effect of *Centella asiatica* on cell viability did not differ significantly compared to other groups. In early apoptosis, *Centella asiatica* group increased approximately three times compared to the control group, and the combination group increased approximately two times. In late apoptosis, the *Centella asiatica* group showed a significant increase compared to the control group, while the combination group increased approximately twice. In total apoptosis, *Centella asiatica* and combination groups showed an increase more than two times compared to the control group..

**Conclusion:** In this study, *Centella asiatica* was found to be a potent apoptosis stimulant in prostate cancer cells and would strongly increase cell death when combined with other chemotherapeutics.

**Keywords:** Cell Death, Prostate Cancer, Apoptosis, *Centella asiatica*, Docetaxel

# 1. GİRİŞ

*Centella asiatica* bol yağış olan tropik iklim koşullarında kolaylıkla yetişebilmektedir. Anavatanı güneydoğu asya ülkeleridir (Sun ve diğerleri, 2020). *Centella asiatica* ve triterpenoidler nörolojik ve cilt hastalıkları üzerindeki faydaları klinik çalışmalarla doğrulanmıştır. İleri araştırmalar göstermiştir ki bu bitkinin anti-inflamatuvar, anti-oksidatif stres, anti-apoptotik etkiler ve mitokondriyal fonksiyonlar üzerinde iyileştirici etkisi bulunmaktadır (Sun ve diğerleri, 2020).

*Centella asiatica*'nın hücre dışı matriks proteinlerinin birikmesi üzerinde büyük bir etkisi vardır. Fibroblast proliferasyonunu uyarır, Smads yolunu aktive eder, kolajen sentezini artırır, metalloproteinazların aktivitesini azaltır ve böylece kolajen birikimini artırır (Bylka ve diğerleri, 2018). Bu gibi etkiler sayesinde *centella asiatica* kanser hücrelerinde sadece ölüm yollarını aktive etmekle kalmayıp aynı zamanda invazyonda oldukça kritik bir olay olan matriks metalloproteinazların aktivitesini bozmaktadır.

Prostat kanseri ise erkek cinsiyetinde oldukça yaygın görülen ve giderek risk yaşı düşen bir kanser türüdür. Hücre ölümü çalışmamızda kullanılmak üzere DU145 prostat kanseri hücre hattı seçilmiştir.

Bu çalışmanın amacı prostat kanseri hücrelerinde hücre ölüm strarejelerinden biri olan apoptoza karşı *centella asiatica*'nın etkinliğini belirlemektir. Elde edilecek sonuçlar ile *centella asiatica*'nın prostat kanseri gibi zorlu bir hastalığa karşı hücre ölümü üzerinden etkisinin daha kapsamlı incelenmesine ve biyolojik öneme sahip kimyasal bileşiklerinin diğer aktivitelere ışık tutması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Prostat Bezi

Prostat bezi, erkek üreme sisteminin bir parçası olup, genel lokalizasyonu pelvistir. Bu bezin temel fonksiyonu vajinanın asidik ortamında sperm için alkali bir solüsyon oluşturmaktır. Salgılanan bu sıvı, vajinanın asitliğini dengeleyerek spermin ömrünü uzatır. Böylelikle bir yumurtayı başarılı bir şekilde dölemek için sperme gerekli süreyi tanır (Singh ve Ballo, 2021). Diğer bir ifadeyle prostat bezi salgısı, vajindeki asidik ortamı nötralize ederek pH'ı düşürür. Böylelikle spermin canlı kalabilmesi için uygun bir ortam sağlar. Ayrıca prostat bezi salgısı, sperm hücrelerini besleyen çok sayıda protein ve enzim içerir. Bunlar arasında su, asit fosfataz ve amilaz gibi enzimlerin yanında PSA, çeşitli elektrolitler ve plasminojen bulunmaktadır (Sedef, 2020). Prostat bezi salgısının, seminal sıvıya ve sperme eklenmesiyle üretrada daha kolay itme kuvveti sağlanır (Singh ve Ballo, 2021).

Embriyonik dönemde 8 ila 12. haftalar arasında insan koryonik gonadotropin (hCG) stimülasyonu ile sekrete edilen testosteron hormonu tarafından prostat bezi oluşumu sağlanır. Bu bezin epiteli stromanın endotelinden köken almakla birlikte, kas dokusu mezenkimden köken almaktadır. Birey puberteye ulaştığında prostat bezi hacimsel olarak artmaktadır (Sedef, 2020).

Prostat, yaklaşık 20 gr ağırlığında ve 3 cm boyutunda olup, temel fonksiyonu toplam seminal sıvının üçte birini üretmektir. Prostat, sıvı üreten glandüler dokudan oluşur. Bu sıvı menin yaklaşık %30 ila %35'ini oluşturmaktadır. Esas görevi sperm hücrelerini beslemek ve oluşacak yüksek pH ortamını alkali ortama çevirerek sperm hücrelerini korumaktır. Prostat bezinin en iyi şekilde çalışması için androjen (testosteron) gereklidir. Kastrasyona dirençli tümörlerin hücre içi androjenler ürettiği düşünülmektedir (Leslie ve diğerleri, 2022).

Prostat, alt pelviste bulunan %30 fibromüsküler ve %70 salgı bezi kısmından oluşan kapsülle sarılı bir organdır. Ana beslenme kaynağı ise vezikal arterdir (Sedef, 2020). Prostat bezi, yoğun bir fibröz ve kas dokusu içerir. Bu bez, mesanenin hemen altında yer alır ve pelviste proksimal üretranın etrafını sarar. Alt kısımda ise dış üretral sfinkterin üzerindedir (Singh ve Ballo, 2021).

Prostat bezinden çok sayıda tübüler yapı geçer. Bunlar arasında boşalma kanalları ve proksimal üretra en önemlisidir. Boşalma kanalları önce seminal veziküle, ardından prostat bezine girerek burada üretra ile birleŐir (Singh ve Ballo, 2021).

Mesane ve prostat bezinin yakın anatomik iliŐkisinden dolayı kan kaynağının bir kısmı mesane tarafından karŐılanır. Asıl kan kaynağı ise inferior vezikal arter'dir. Ayrıca orta rektal ve internal pudental arterlerden de destek alır. Prostat bezi, hipogastrik pleksustan otonom lifler yoluyla sinirsel uyartı alır. Parasempatik girdiler ise pelvik pleksus yoluyla elde edilir. Hipogastrik ve pelvik pleksus, prostat için duyuusal girdiler sağlar (Singh ve Ballo, 2021).

Alkali sıvı salgılayan prostat bezi yaklaşık 20 ml hacminde olup, anatomik olarak üç bölgeye ayrılmıŐtır. Bunlar; santral zon, periferik zon ve transisyonel zon'dur (Sedef, 2020).

- a) Merkezi bölge: Boşalma kanallarını çevreleyen bölgedir.
- b) Periferik bölge: Prostat bezinin en büyük bölgesidir ve yaklaşık %70'ini oluşturur.
- c) Geçiş bölgesi: Üretranın bir kısmını çevreleyen küçük bir bölgedir (Singh ve Ballo, 2021).

### **2.1.1. Prostat Bezinin Klinik  nemi**

Prostat bezinin   önemli klinik yansıması vardır. Bunlar; iyi huylu prostat hiperplazisi, prostat kanseri ve prostatiktir (Singh ve Ballo, 2021).

a) İyi Huylu Prostat Hiperplazisi: İyi huylu prostat hiperplazisi durumunda oluşan kitle, mesaneye doğru çıkıntı yapabilir veya üretrayı daraltabilir. Bunun sonucunda idrar yolunda tıkanıklığa sebep olarak idrar akışını engelleyebilir. İyi huylu prostat hiperplazisinden kaynaklanan en sık Őikayetler arasında noktüri, idrar sıklığı veya zayıf idrar akıntısı bulunur. Bu komplikasyonlar genellikle konservatif olarak veya alfa-1 reseptör blokleri kullanılarak tedavi edilir. Alfa-1 reseptör blokleri, prostat  retrasındaki ve mesane boynundaki alfa-1 reseptörünü bağlayarak bloke eder. Bu durum düz kas tonusunu azaltır ve idrarın daha kolay geçiŐine imkan sağlar. Böylelikle iyi huylu prostat hiperplazisindeki komplikasyon ortadan kalkar. Diğer bir tedavi Şekli ise 5-alfa redüktaz inhibitörü kullanmaktır. Bu ajan testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü engeller. Dihidrotestosteronun azalması prostat atrofisine neden olur, bu da prostatın genel boyutunu küçültür. Böylelikle iyi huylu prostat hiperplazisinden kaynaklanan tıkanıklık engellenmiŐ olur. Ayrıca anti-muskarinik ajanlar

kullanılarak mesane içindeki detrusor kaslarının kasılmasını inhibe edilebilir. Böylelikle idrar sıklığı azaltılabilir (Singh ve Ballo, 2021).

b) Prostat Kanseri: Prostat kanseri, çoğunlukla bir adenokarsinom olarak ortaya çıkar (Singh ve Ballo, 2021). Ancak sarkomlar, nöroendokrin tümörler, transisyonel hücreli karsinomlar ve küçük hücreli karsinomlar da görülebilmektedir (Sedef, 2020). Adenokarsinomların çoğu periferik bölgede gelişir ve BPH geçiş bölgesine çıkma eğilimindedir (Leslie ve diğerleri, 2022).

c) Prostatik: Genellikle idrar yolundaki bakteriyel enfeksiyonlara bağlı olarak gelişir. Bunun sonucunda önce ağrı sonra diğer idrar yolu semptomları görülür. Tedavide ise gram negatif bakterilere etki eden antibiyotikler kullanılır (Singh ve Ballo, 2021).

Prostat kanseri genellikle normal prostat grandüler hücrelerinde bir mutasyonla başlar ve en çok dijital rektal muayene (DRE) ile palpe edilebilen periferik bölgede yaygın olarak gelişir. Prostat kanseri, prostatın grandüler kısmında geliştiği ve mikroskopik incelemede tipik grandüler paternler gösterdiği için bir adenokarsinomdur. Burada kanser hücreleri meydana gelip, çoğalmaya başlar ve prostat dokusuna yayılır. Bunun sonucunda tümör nodülleri meydana gelir. Daha sonra bu tümör ekstrakapsüler yayılma gösterebilir (prostat dışında büyüme) veya onlarca yıl prostat içinde lokalize kalabilir. Ayrıca prostat kanserinin genellikle kemiklere ve lenf düğümlerine metastaz yaptığı bilinmektedir. Prostat dokusu çinko depolayıp, sitrat üretmektedir. Bununla birlikte gıda takviyesi olarak çinko ve sitrat alımının veya güçlendirilmiş diyetin prostat sağlığına veya prostat kanseri gelişimine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmektedir (Leslie ve diğerleri, 2022).

Prostat kanserinde genetik değişimler şu şeklide özetlenebilir;

a) Prostat kanserinde genellikle NKX3.1 (PSA tarafından düzenlenen bir homeobox geni) silme mutasyonuna uğramıştır.

b) Prostat kanserleri tümörlerinin yaklaşık %50'sinde MYC gen ekspresyonunda bir artış görülür.

c) Androjen reseptör (AR) sinyali prostat gelişiminde ve işlevinde önemli bir rol oynar. Ancak AR, metastatik prostat kanserlerinin çoğunda mutasyona uğramıştır.

d) Prostat kanserinin yaklaşık %40'ında PTEN silme mutasyonuna uğramıştır. Bu durum daha yüksek Gleason skoru, daha kötü prognoz ve daha kötü yüksek metastaz oranı ile ilişkilidir (Wang ve diğerleri, 2018).

Prostat kanserinin ilk olarak hormon duyarlı bir özelliğe sahip olduğu keşfedilmiştir. Bu sayede androjen bloke eden ajanların kullanımı “androjen eksikliği tedavisi (ADT)” olarak prostat kanseri tedavisinde standart bir yöntem haline gelmiştir. Ancak zamanla ADT'ye karşı prostat kanseri hücreleri direnç geliştirmiş ve bu durum dirençli prostat kanseri veya metastatik dirençli prostat kanseri ile sonuçlanmıştır (Wang ve diğerleri, 2018).

Prostat kanseri tedavisinde kullanılan iki adet FDA onaylı immünoterapi ilacı bulunmaktadır. Bunlardan ilki “Sipuleucel-T” olup, asemptomatik veya minimal düzeyde semptomatik özellik gösteren metastatik dirençli prostat kanseri tedavisinde kullanılır. İlaç otolog aktif bir hücreli immünoterapidir. İkincisi ise “Pembrolizumab” adlı hümanize monoklonal anti PD-1 antikorudur. 2017 yılında rezeke edilemeyen ve/veya metastatik katı tümörlerin tedavisi için FDA'dan onay aldı (Kwon ve diğerleri, 2021).

Androjen reseptörü, prostat kanserinin ilerlemesini sağlayan en önemli faktörlerden birisidir. Anti-androjen reseptör uygulamaları, tedavinin temelini oluşturur. ADT'ler, gonadotropin salgılatıcı hormonu bloke ederler. Böylelikle androjen reseptörünü veya androjen sentezini CYP17 üzerinden inhibe ederek dolaşımdaki testosteronu azaltır (Kwon ve diğerleri, 2021).

Prostat kanseri, çoğu vakada erken semptom vermemekle birlikte, geç semptomlar arasında kemik ağrısı, anemiye bağlı halsizlik, bilateral üreter obstrüksiyonundan kaynaklanan böbrek yetmezliği gibi pek çok sebep vardır (Leslie ve diğerleri, 2022). Prostat kanseri erken dönemde genellikle asemptomatiktir. Bununla birlikte sık idrara çıkma, noktüri, hematüri, dizüri ve idrar akışını başlatma ve sürdürmede zorluk gibi iyi huylu prostat hiperplazisine benzer semptomlara neden olabilir. Prostat kanseri, cinsel işlev bozukluğuna sebep olup, performansı olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durum hastada ereksiyona ulaşmada zorluk veya ağırlı boşalma gibi semptomlar olarak kendini gösterir. Metastatik prostat kanseri pelviste, omurlarda, kalçalarda veya kaburgalarda şiddetli kemik ağrılarına sebep olabilir. Femura yayılım genellikle kemiğin proskimal kısmına doğrudur. Prostat kanseri, omurilik sıkışmasına sebep olabilir; ağrı, felç, karıncalanma, bacak güçsüzlüğü ve idrarın yanı sıra fekal inkontinansa neden olur. Prostat anormallikleri, asimetri ve şüpheli sert nodüller Dijital Rektal Muayene



(DRE) ile saptanabilir ancak bu yöntem tek başına yeterli değildir (Leslie ve diğeri, 2022). Prostat kanseri, prostat ile bağlantılı olan venöz kanallar aracılığıyla yayılım gösterebilmektedir (Singh ve Ballo, 2021).

Metastatik prostat kanseri, prostat kanserine bağlı ölümlerin önde gelen nedenlerindedir. İlk metastaz bölgesi genellikle primer tümöre bitişik lenf düğümleridir. Bunu karaciğer, akciğer ve kemik metastazları takip eder. İnsan prostat kanserine bağlı kemik metastazlarında ise genellikle şiddetli ağrı oluşur (Wang ve diğeri, 2018).

PIA lezyonları, prostat bezinin kronik inflamasyonu ile ilişkilidir. PIA ile yüksek dereceli prostat intraepitelyal neoplazisi (PIN) arasında histolojik geçişler gözlemlenmiştir. İnsan prostatında, lezyonlar ağırlıklı olarak prostatın çoğu kanserin ortaya çıktığı periferik bölgesinde bulunur. Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, prostatit öyküsü olan erkeklerde prostat kanseri riskinin arttığı sonucuna varılmıştır (Bardia ve diğeri, 2009).

Uzun süre et diyeti yapmak prostat kanseri riskini arttırmaktadır. Bu riskin bir kısmı pişirme uygulamalarıyla ilişkilidir. Etlelerin yüksek sıcaklıklarda, özellikle kömür ateşinde pişirilen yağlı etlerin heterosiklik amin (HCA) ve polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) oluşması söz konusudur. Bu kimyasallar mutasyonu indükleyerek hücre/doku hasarına sebep olabilirler. Sebze ve meyvelerden zengin diyetler, prostat kanseri riskini azaltmaktadır. Özellikle domates ve turpiller oldukça önem taşımaktadır (Bardia ve diğeri, 2009).

Aspirin ve non steroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAID'ler), siklooksijenazları (COX'ler) inhibe ederek inflamasyonu azaltmaktadır. Bu etkilerinden dolayı kanser için potansiyel kemopreventif ajanlar olarak ilgi görmektedirler. Bu ajanların toplam kanser insidansı ve özellikle meme, prostat, gastrointestinal ve kolorektal için kansere bağlı ölümlerle ters bir ilişkisi olduğu bilinmektedir. Aspirin ve NSAID'ler hem COX izoformlarını, hem de COX-1'i ve COX-2'yi geniş ölçüde inhibe eder. Popülasyona dayalı çalışmalar, aspirinin prostat kanseri riski üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğuna işaret etmektedir. Daha sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda aspirin ve prostat kanseri arasında ters bir ilişki olduğunu destekler nitelikte sonuçlar bulunmuştur (Bardia ve diğeri, 2009).

Prostat spesifik antijen (PSA), prostat kanserinin önemli bir belirteçidir (Singh ve Ballo, 2021). Öyle ki prostat kanseri tanısında ilk aşama olarak PSA testi uygulanmaktadır. Daha sonra prostat doku biyopsilerinden yararlanılmaktadır. Bunlara ek olarak yeni tanı yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında; serbest ve toplam PSA değerleri, Prostat Sağlık İndeksi (PHI)

puanlaması, PCA3 idrar testi, ekzozom testi, genomik analizler ve '4K' skoru gibi pek çok test bulunur (Leslie ve diğeri, 2022).

1960'larda Patolog Dr. Donald Gleason tarafından tüm prostat kanserlerinin patolojik tanımları için evrensel nitelikte olan bir skorlama sistemi geliştirilmiştir. Gleason skoru olarak bilinen bu sistem diğeri kanser türleri için kullanılan hüresel özellikleri tanımlamaktan ziyade prostattaki bezlerin mikroskobik düzenine, mimarisine veya modeline göre tasarlanmıştır. Bu skorda 1'de 5'e kadar bir derece verilir. Derece 1, neredeyse normal bir mikroskobik grandüler patern ve görünümü temsil ederken; derece 5, glandüler mimarinin kalmadığı ve sadece anormal kanser hücrelerinin bulunduğu bir görünümü temsil eder. 2016 yılında ise Dünya Sağlık Örgütü (WHO) bu sistemi klinik deneyimin ön planda olduğu yeni bir sınıflandırma sistemi ile revize etmiştir (Leslie ve diğeri, 2022).

Prostat kanserinin başlıca histolojik özellikleri ve göstergeleri şunlardır:

- a) amfofilik sitoplazma,
- b) intralüminal kristaloidler,
- c) pembe amorf salgılar,
- d) intralüminal mavi müsin,
- e) artan mitotik figürler,
- f) atipik olarak büyümüş hücre çekirdekleri,
- g) bazal hücre tabakasının kaybolması,
- h) infiltratif grandüler büyüme paterni,
- ı) Yüksek dereceli prostatik intraepitelyal neoplazi (HG-PIN) (Leslie ve diğeri, 2022).

Prostat kanseri hücreleri kemik iliğine lokalize olduğunda, kanser hücreleri ile kemik mikro-çevresi arasında bir etkileşim olur. Bu etkileşim, kemik oluşumu ve yıkımı arasında bir kısır döngü ile sonuçlanır. Endotelin-1, adrenomedullin, fibroblast büyüme faktörleri, trombosit kaynaklı büyüme faktörleri ve kemik morfogenetik proteinleri dahil olmak üzere prostat kanseri

hücreleri tarafından salgılanana büyüme faktörleri osteoblast aktivasyonunu yeniden oluşturmak üzere uyabilir. Buna ek olarak, matriks metalloproteinazlar, prostat spesifik antijen (PSA) ve ürokinaz tipi plazminojen aktivatörü gibi tümör tarafından salgılanan proteazlar, TGF- $\beta$ , insülin dahil olmak üzere osteoblast uyarıcı büyüme faktörlerinin salınımını teşvik eder. Aktive edilmiş osteoblastlar hipokalsemiye, artmış RANKL konsantrasyonlarına ve hipokalsemiye yanıt olarak paratiroid hormonunun salınımına yol açar. Bu konakçı tarafından salgılanan faktörler, prostat kanserinin büyümesine ve hayatta kalmasına teşvik eder (Wang ve diğerleri, 2018).

### **2.1.2. Prostat Kanseri Etiyolojisi ve Epidemiyolojisi**

Prostat kanseri, dünya çapında en sık teşhis edilen erkek malignitesidir (Leslie ve diğerleri, 2022). Prostat kanseri tüm dünyada erkeklerde 2. en sık, 50 yaş üstü erkeklerde ise en sık meydana gelen kanser türüdür (Sedef, 2020). Ancak prostat kanseri oldukça yavaş büyüme eğilimindedir ve derecesi nispeten düşüktür (Leslie ve diğerleri, 2022). Prostat kanseri gelişiminde multifaktöriyel etkenler bilirse de aile öyküsü, beslenme tarzı, ejakülasyon sıklığı, obezite gibi etkenlerinde etiyojide rol aldığı düşünülmektedir (Sedef, 2020). Ayrıca etnik köken, yüksek testosteron seviyeleri, egzersiz yetersizliği ve hipertansiyon da oldukça önemli bir yere sahiptir. Ancak prostat ve diğer kanser türleri için bilinen olan en önemli risk faktörü yaştır (Leslie ve diğerleri, 2022). Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, prostat kanserinin en kalıtsal kanserler arasında olduğunu göstermiştir (Wang ve diğerleri, 2018).

Prostat kanserinde tek bir gen sorumlu olmayıp, pek çok gen etkilidir. Yapılan araştırmalara göre BRCA1 ve BRCA2'de meydana gelen mutasyonların sadece meme kanserinde etikili olmadığı, prostat kanserinde de ilişkili olduğu bildirilmiştir (Leslie ve diğerleri, 2022).

Prostat kanseri sebebiyle takip edilen hastaların %80'i 65 yaş ve üzerinde olduğu tespit edilmiştir. 1. derece akrabasında prostat kanseri öyküsü olan insanlar daha erken yaşta kansere yakalandığı bilinmektedir (Sedef, 2020). Bu insanlar radikal prostatektomi ameliyatı geçirmiş olsa dahi nüks riski oldukça fazladır (Leslie ve diğerleri, 2022).

Yine 1. derece yakınında prostat kanseri öyküsü bulunan erkekler, genel popülasyona göre iki kat daha fazla risk taşımaktadır (Leslie ve diğerleri, 2022). Araştırmalara göre prostat kanseri tanısı olan hastaların 5 yıllık yaşam süresinin %93 civarında olduğu tespit edilmiştir. Prostat kanseri oldukça yavaş ilerleyen bir kanser türüdür (Sedef, 2020).

Amerika kıtasının kuzeyinde ve İskandinav ülkelerinde prostat kanseri daha sık görülürken; çin ve kore gibi doğu ülkelerinde insidans daha düşüktür. Ancak tüm dünyada insidansın giderek arttığı bildirilmiştir. Prostat kanseri mortalitesine bakıldığında ise tüm dünyada yılda 359.000 kişinin bu sebepten öldüğü düşünülmektedir (Sedef, 2020).

### **2.1.3. Prostat Kanseri Tedavisinde Kullanılan Bir Kemoterapötik: Dosetaksel**

Dosetaksel, porsuk ağacından elde edilen yarı-sentetik bir taksandır. Dosetaksel, bir mitotik iğ ipliği zehridir ve tübülün polimerizasyonu sırasında mikrotübüle yüksek afiniteli olarak bağlanır. Bu durum mitozun ve hücre bölünmesinin inhibisyonuna yol açar. Dosetaksel akut toksisite olarak aşırı duyarlılık gösterirken, geç toksisite olarak nörotoksisite, sıvı retansiyonu, nötropeni ve kemik iliği depresyonu gösterir. Dosetaksel; meme kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, prostat kanseri, gastrik kanser, baş ve boyun kanseri, over kanseri ve mesane kanseri tedavisinde kullanılmak üzere onaylıdır (Chu ve Sartorelli, 2014).

### **2.1.4. Prostat Kanserinin İmmünojenomik Alt Tipleri**

#### **2.1.4.1. PTEN (Fosfataz ve Tensin Homologu) Kaybı Olan Prostat Kanseri**

Primer prostat tümörlerinin yaklaşık %20'sinde PTEN kaybı mevcuttur. Metastatik dirençli prostat kanseri vakalarında ise bu oran %40'lara çıkmaktadır. PTEN, prostat kanserinde en yaygın inaktive olmuş tümör baskılayıcı genlerden biridir. PTEN, PI3K sinyal yolağını antagonize ederek sinyal ağını bozmaktadır. Bununla birlikte PTEN, inflamasyonu ve immün sistemi modüle etmektedir (Kwon ve diğerleri, 2021).

#### **2.1.4.2. SPOP (Benek Tipi iek Virüsü ve inko Parmak Proteini) Kaybı Olan Prostat Kanseri**

Prostat kanserinin yaklaşık %10-15'inde SPOP tümör baskılayıcın geninin yanlış anlamlı mutasyonu mevcuttur. SPOP kaybı, kanser hücresinin proliferasyonunu ve büyümesini destekler (Kwon ve diğeri, 2021).

#### **2.1.4.3. MMR (DNA Uyumsuzluk Onarımı) Kaybı Olan Prostat Kanseri**

Prostat kanserinin yaklaşık %3-12'sinde MMR (DNA Uyumsuzluk Onarımı) genlerinde kayıp olmaktadır. Bu kayıp somatik hücrelerde ve üreme hücrelerinde olmasına göre kategorize edilebilir. dMMR, prostat kanserinde yüksek bir Gleason skorundan (%79 Gleason 8-10) sorumludur. Dolayısıyla dMMR, kötü bir prognozla ilişkilidir. MMR mekanizmasındaki bozukluk DNA replikasyonunun dinamiğinin olumsuz etkilemektedir. Özellikle mikro-uydu bölgelerinde genomik kararsızlığa sebep olur (Kwon ve diğeri, 2021).

#### **2.1.4.4. HRD (Homolog Rekombinasyon Eksikliği) Olan Prostat Kanseri**

DNA kırıklarının onarımı için gerekli olan homolog rekombinasyon eksikliği, erken evre prostat kanserinin yaklaşık %5-8'inde meydana gelir bu da metastatik dirençli prostat kanseri vakalarında %20-25'e yükselir. DNA kırıkları, stalled DNA çatalları ve/veya çapraz bağlanmış DNA'nın bir sonucu olarak ortaya çıkar (Kwon ve diğeri, 2021).

#### **2.1.4.5. CDK12 (Siklin Bağımlı Kinaz 12) Kaybı Olan Prostat Kanseri**

Metastatik dirençli prostat kanserlerinin %4.7'sinde kötü bir CDK12 değişikliğinin olduğu bulunmuştur. Homolog rekombinasyonda yer almasına rağmen, CDK12 silinme mutasyonuna uğramış prostat kanseri, diğer prostat kanserlerinden genomik ve immünolojik olarak farklı bir profil sergiler (Kwon ve diğerleri, 2021).

### 2.1.5. Prostat Kanserinde Epigenetik Değişiklikler

Çevresel koşullar, yaşam tarzı ve diyet epigenetik mekanizmalar yoluyla kanser riskine katkıda bulunabilmektedir. Doğrudan prostat kanserine ile ilgili az sayıda veri olmasına karşın, diğer sistemlerde yapılan araştırmalar güçlü kanıtların ortaya çıkmasına sebep olacaktır. Yaşlanma ile birlikte DNA metilasyonu ile spesifik genlerin etkisizleştirilmesinin bu bölgede kanser gelişimindeki en erken olaylardan biri olduğu kabul edilmiştir (Cooper ve Foster, 2009).

Histon modifikasyonu, gen ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla normal ve neoplastik süreçlerde kritik rol oynar. Bu histon modifikasyonları arasında asetilasyon, metilasyon ve fosforilasyonlar vardır. Primer prostat kanseri ve metastatik prostat kanserinin yaklaşık %20'si kadarın da birçok epigenetik düzenleyici ve kromatin yeniden şekillendiricide mutasyonlar tanımlanmıştır (Wang ve diğerleri, 2018).

Monozigotik (tek) ikizlerin analizi, erken yaşamda epigenetik olarak birbirinden ayırt edilemez olduklarını göstermiştir. Ancak yaşlanmayla birlikte DNA metilasyon paternlerinde, histon modifikasyonunda ve gen ekspresyon paterninde farklılıklar gözlenir. Çevresel faktörler ve farklı diyetler epigenetik değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. Prostat kanseri genellikle çok yavaş ilerler. Birçok vakada bu hastalığın gelişimini ve/veya ilerlemesini geciktiren tedaviler önemli bir klinik etki yaratabilir. Bu kapsamda potansiyel kemopreventif ajanlar olan sülforafan, bütirat ve dialil disülfidin HDAC (Histon deasetilaz)'lerin inhibitörü olarak hareket ederler. Yeşil çayda bulunan ve önemli bir antioksidan olan EGCG, bir DNMT (DNA metiltransferaz) inhibitörüdür (Cooper ve Foster, 2009).

Kanser gelişimi ile DNA'nın CpG adalarında sitozinin N5 pozisyonundaki metilasyonu arasında bir bağlantı bulunmaktadır. Prostat kanserinde CpG adalarında birçok gen hipermetile olmaktadır. Kanser hücrelerinde metillenen genler, özellikle H3K27me3 içeren nükleozomlarda paketlenmektedir. Kanser gelişimi sırasında APC dahil olmak üzere birçok

genin 5' bölgelerindeki CpG adalarının hipermetilasyonun bloke edilmesi tümör baskılayıcı etki göstermektedir. DNA metilazlar tarafından başlatılan uygun olmayan gen hipermetilasyonu, kanser gelişiminde muhtemelen yaşlamayla ilişkili erken bir olayı temsil etmektedir (Cooper ve Foster, 2009).

Metilasyon ayrıca tümör ilerlemesinde de ilişkilidir. Örneğin, prostat ve meme hücrelerinde bir hücre-hücre yapışma geni olan E-kadherinin CpG adalarındaki hipermetilasyonu, tümörün ilerlemesinde kritik rol oynayan EMT'nin ayrılmaz bir parçasıdır. Hücre sinyal yolağını aşağı regüle eden ve metastazda rol aldığı öne sürülen östrojen reseptör alfa geninin metilasyonu, prostat kanserinde de belgelenmiştir (Cooper ve Foster, 2009).

## 2.2. *Centella Asiatica*

*Centella*, tropikal ve subtropikal bölgelerde yaşar ve yaklaşık 50 türü bilinmektedir. *Centella*, Apiaceae bitki ailesine aittir ve en yaygın *Centella asiatica* türü bulunur. Çok yıllık otsu bir bitki olup, nemli/bataklık alanlarda bolca yetişir. *Centella asiatica*, kordat, orbikular veya reniform yapraklara sahip olup, uzun düğümler ve internodlar ile karakterize stolonlar üreterek klonal olarak çoğaltılır (James ve Dubery, 2009). Bitki, birbirine birleşen yeşilden kırmızıya kadar olan stolonları ve yeraltında kökleri ile yatay olarak büyür. (Orhan ve diğerleri, 2012). Yapraklar perikladyal yaprak sapları üzerinde taşınır. Yapraklar pürüzsüz yüzeyli, ince ve yumuşaktır, palmate damarları vardır ve genişliği 1-5 cm arasında değişebilir (Bandara ve diğerleri, 2011). *Centella asiatica* bitkisinin formu ve şekli çevresel koşullara bağlı olarak büyük ölçüde farklılık gösterebilir. *Centella asiatica*, "Gotu Kola" veya "Hint Kuru Otu" olarak da bilinir (James ve Dubery, 2009).

*Centella asiatica*'nın sekonder metabolitleri tıpta, tarımda ve sanayide oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu sebeple aktif bileşenlerinin biyosentezi ve biyolojik aktiviteleri hakkında çok sayıda araştırma yapılmaktadır. *Centella asiatica*'nın aktif bileşenleri kronik venöz hastalıkların ve yara iyileşme bozukluklarının tedavisindeki etkisiyle iyi bilinmektedir (James ve Dubery, 2009). Ayrıca *centella asiatica*'nın kronik venöz hastalıkları ve yara iyileşmesinin yanı sıra, antiinflamatuvar, antitümör, antiviral, antibakteriyel, antifungal, antioksidan ve lepra tedavileri için kullanımı bildirilmiştir (Orhan ve diğerleri, 2012).

Önerilen dozlarda uygulanan *centella asiatica* toksik değildir ve olası yan etkileri nadirdir. Harici olarak kullanıldığında alerjik reaksiyonlara ve yanmaya neden olabilir. *Centella asiatica*'nın önerilen dozlarının oral yoldan verilmesi hazımsızlık, mide bulantısı ve baş ağrısına neden olabilir ve aşırı dozda kullanımı baş dönmesi ve uyuşukluğa neden olabilir (Bylka ve diğerleri, 2018). *Centella asiatica* ekstreleri ile 6 haftadan fazla tedavi önerilmemektedir ve bir sonraki uygulamaya 2 hafta ara verilmelidir. *Centella asiatica* içeren preparatların diğer ilaçlarla etkileşimleri, fetüs üzerindeki teratojenik etkisi ve emziren kadınlarda kullanımının güvenliği hakkında bilgi bulunmamaktadır; bu nedenle, bu bitkinin özlerini içeren müstahzarlar şu anda önerilmemektedir (Bylka ve diğerleri, 2018).

### 2.2.1. *Centella Asiatica*'nın Önemli Kimyasal Bileşikleri

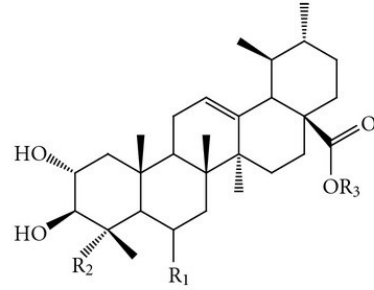
*Centella asiatica*'nın "madecassol" adında ticari bir ilacı bulunmakla birlikte içeriğinde %53.1 madecassoside ve %32.3 asiaticoside olmak üzere yaklaşık %80 triterpenoid glikozitler bulunmaktadır (Nagoor Meeran ve diğerleri, 2018). *Centella asiatica*'nın farklı kimyasal sınıflara ait çok sayıda bileşik içerdiği bildirilmiştir. Bu bitkide bulunan ana kimyasal sınıf, triterpen saponosidlerdir. Başlıcaları; asiatic asit, madecassik asit (6-hidroksi asiatic asit), asiaticosid, madecassoside ve madasiatic asit (Şekil 1), betulinik asit, teşekkürunik asit ve izotankunik asit olarak bilinir (Orhan ve diğerleri, 2012). *Centella asiatica*'nın sulu ve alkollü ekstraktları anti-alerjik, anti-inflamatuar ve anti-pruritik aktivitelere sahiptir. Bu etki asiaticoside, madecassoside ve triterpenler gibi glikozitlerin varlığına bağlıdır (George ve Joseph, 2009).

Hücre kültürü çalışmalarında, insan fibroblastlarının kollajen sentezini uyaran tek triterpen bileşik asiatic asittir. Madecassik asit, asiaticoside ve asiatic asit üçlü triterpen içeren titre edilmiş *Centella asiatica* özütü ise hem fibronektin hem de kollajen sentezini %20-30 oranında uyarmaktadır (Hashim ve diğerleri, 2011).

*Centella asiatica*, diğer antioksidanlarla karşılaştırıldığında serbest radikalleri inhibe etme özelliğine göre şu şekilde sıralanabilir: Yeşil çay > C vitamini > *Centella asiatica* > Üzüm çekirdeği ekstresi (Hashim ve diğerleri, 2011). Ayrıca UV-B hasarına karşı *Centella asiatica* potansiyel bir doğal koruma sağlamaktadır. Bu koruma, triterpen bileşenlerinden kaynaklanmaktadır (Hashim ve diğerleri, 2011).



*Centella asiatica*, pentasiklik triterpenler olan adlandırılan asiaticoside, madecassoid, asiatic asit ve madecassic asit gibi oldukça önemli aktif maddeler içerir. Bu aktif maddeler, ateş düşürücü, yara iyileştirici, kırışık önleyici, iltihap önleyici ve kırışık önleyici etkilerin dolayı yaygın olarak kullanılır (Puttarak ve diğerleri,2017).



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Asiatic acid	H	CH <sub>2</sub> OH	H
Madecassic acid	OH	CH <sub>2</sub> OH	H
Madasiatic acid	OH	CH <sub>3</sub>	H
Asiaticoside	H	CH <sub>2</sub> OH	Glucose-glucose-rhamnose
Madecassoside	OH	CH <sub>2</sub> OH	Glucose-glucose-rhamnose

**Şekil 1.** *Centella asiatica*'da bulunan başlıca triterpen saponosidler (Orhan ve diğerleri, 2012).

Asiatik asit, birçok büyüme faktörünü, transkripsiyon faktörünü, enzimi, reseptörü, apoptotik proteinleri ve hücre sinyal iletim ağını modüle etmektedir (Nagoor Meeran ve diğerleri, 2018). Asiatik asit, reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı etkili olup, oldukça kuvvetli bir zincir kırıcı antioksidandır. Asiatik asit, lipid perosidasyonunu inhibe edip, miyeloperoksidaz aktivasyonunu azaltmaktadır. Öyle ki lipid peroksidasyonu üzerindeki inhibitör etkisi diğer antioksidanlardan (probukol, askorbik asit a-tokofel gibi) çok daha etkilidir. Ayrıca asiatik asit hem enzimatik hem de non-enzimatik antioksidanların aktivitelerini/seviyelerini arttırmaktadır (Nagoor Meeran ve diğerleri, 2018). *Centella asiatica*'nın hücre dışı matriks proteinlerinin birikmesi üzerinde büyük bir etkisi vardır. Fibroblast proliferasyonunu uyarır, Smads yolunu aktive eder, kolajen sentezini arttırır, metalloproteinazların aktivitesini azaltır ve böylece kolajen birikimini arttırır (Bylka ve diğerleri, 2018).

### 2.2.2. *Centella Asiatica*'nın Taksonomik Sınıflandırılması

Alem : Bitkiler (Plantae)  
Şube : Kapalı Tohumlular (Magnoliophyta)  
Sınıf : İki Çenekliler (Magnoliopsida)  
Takım : Maydonozlar (Apiales)  
Aile : Maydonozgiller (Apiaceae)  
Cins : Centella  
Tür : Centella asiatica (Bandara ve diğerleri, 2011).

### 2.2.3. *Centella Asiatica*'nın Hücre Ölümü Üzerine Etkisi

*Centella asiatica*'da bulunan asiyatik asit, sadece bir anti-inflamatuar, antioksidan ve nöroprotektif ajan olmayıp, aynı zamanda kansere karşı da farmakolojik aktiviteleri vardır. Asiyatik asit, A549 akciğer kanseri hücrelerinde mitokondriyal fonksiyonu bozarak ROS'a bağlı hücre ölümünü tetiklemektedir (Wu ve diğerleri, 2017). Hücre ölümü sürecinde (apoptoz ve otofaji dahil) mitokondri ve ROS oldukça önemli bir rol oynar. Aşırı oksidatif stres altında ROS birikimi, mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözeneklerinin (MPTP'ler) açılmasını veya mitokondriyal dış zarların oksidasyonunu tetikleyen bir eşik seviyesine ulaşır. Bu durum mitokondriyal membran potansiyelinin eş zamanlı olarak çökmesine neden olur. Mitokondriyal geçirgenliğin artmasıyla serbest kalan proteinler ve ROS, DNA hasarı, sinyal yollarının aktivasyonu ve transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu dahil olmak üzere bir çok hücreysel olayda rol oynar. Asiyatik asit, mitokondriyal disfonksiyonu indükler (Wu ve diğerleri, 2017).

Mitokondriyal hasar, otofajik hücre ölümü için kritik öneme sahiptir. Otofaji, hücreysel içerikleri yutmak, lizozom organeliyle kaynaştırmak ve bu içerikleri sindirmek için otofagozomları kullanan dinamik bir hücre ölüm çeşididir. Otofaji çift ve zıt yönlü (olumlu/olumsuz) bir etkiye sahiptir. Olumlu yanı, hücreyi açlık ve enfeksiyon gibi çevresel stres koşullarına karşı korurken, bir yandan da aşırı otofajik aktivasyon hücre ölümünü

arttırmaktadır. Asiatik asidin otofaji üzerindeki etkisi A549 hücrelerinde otofagozomların artışı ile kanıtlanmıştır. Bu durumda asiatik asit, otofaji kaynaklı hücre ölümünü desteklemektedir (Wu ve diğerleri, 2017).

*Centella asiatica*'da bulunan bir diğer önemli bileşik madecassoide'dir. Madecassoide, oksidatif stres altında indüklenen kalsiyum birikimini engellemektedir. Dolayısıyla madecassoide, mitokondri yapısını oksidatif strese karşı korumaktadır. Otofaji sırasında, LC3'ün sitozolik formu olan LC3-I parçalanır ve otofagozomal membrana alınan fosfatidiletanolamin konjuge formu olan LC3-II'yi oluşturmak üzere lipide edilir. Otofagozom oluşumunun göstergesi LC3-II/LC3-I oranı ve/veya LC3-II'nin ekspresyon seviyesidir. Madecassoide ile muamele edilen melanosit hücreleri daha yüksek bir LC3-II ekspresyonuna sahiptir. Ayrıca madecassoide, LC3-I'in LC3-II'ye dönüşümünü de arttırmaktadır (Ling ve diğerleri, 2017).

*Centella asiatica* özütü apoptoz yoluyla HepG2 hücre hattının çoğalmasını engellediği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmaya göre 72 saat bitki özütüyle muamele edilen HepG2 hücrelerinde DNA hasarı artmaktadır. Buna ek olarak, bitki özütü, HepG2 hücrelerinde c-myc gen ekspresyonu seviyesini azaltırken; c-fos ve c-erb B2 genlerinin seviyelerini arttırmaktadır. Bu tür değişiklikler karaciğer tümör hücrelerinde apoptozu arttırmaktadır. Sonuç olarak *Centella asiatica* özütünün karaciğer kanseri insidansını azaltabileceği sonucuna varılmıştır (Hussin ve ark.).

Sıçanlarda ise DMBA ile indüklenen kanser hücreleri üzerinde asiaticoside'nin etkileri araştırılmış ve asiaticoside'nin kronik inflamasyonda önemli bir rol oynayan IL-1 $\beta$  ve TNF-alfa ekspresyonu azalttığı bulunmuştur. Asiaticoside, potansiyel kemopreventif ajan olarak anti-tümör ve anti-inflamatuar etkilere sahip bir ajan olarak kabul görmüştür (Al-saeedi, 2014).

*Centella asiatica*'nın içeriğinde bulunan önemli bileşiklerden biride asiayatik asittir. Prostat kanseri androjen bağımlıdır. Yani başlaması, ilerlemesi ve gelişmesi için androjen bağımlı sinyallenme gerekir.

**Tablo 1.** Asiatik asit'in kanser hücre hatlarında hücre ölüm etkileri

Hücre Hattı	Etki Mekanizması	Kaynak
PPC-1 Hücre Hattı	Kaspaz-2,-3,-8 ve -9' un aktivasyonunu artırır.	Nagoor Meeran ve diğerleri, 2018.

	Kaspaz bağımlı ve bağımsız hücre ölümünü indükler. Ayrıca endoplazmik retikulumu olumsuz yönde etkileyerek, kalsiyum homeostazı bozar	
HepG2 Hücre Hattı	Hücre içi kalsiyum sinyal aktivitesinin arttırarak apoptozu tetikler ve p53 ekspresyonunu arttırır.	Lee, 2002.
HT-29 Hücre Hattı	Kaspaz-3'ün aktivasyonunu arttırır.	Bunpo ve diğerleri, 2005.
A549 Hücre Hattı	EMT ve tümör hücre göçünü azaltır.	Cui ve diğerleri, 2019

*Centella asiatica* su bazlı ekstresi kullanılarak yapılan çalışmalar sıçanların kalın bağırsak tümörlerinde kript odaklarını anlamlı derecede azalttığı bulunmuştur. Ayrıca *centella asiatica* ekstresi ile beslenen sıçanların ince ve kalın bağırsaklarında adenokarsinom sayısı ve neoplazm görülme sıklığı önemli derecede düşmektedir (Bunpo ve diğerleri, 2004).

### 2.3. Anneksin-V Tespitinde Flow Sitometri

Apoptozu ölçmek için, ışık mikroskobu, elektron mikroskobu veya Giemsa veya floresan boyalarla nükleer boyama kullanılmaktadır. Ancak apoptozu mikroskopi ile ölçmek oldukça zahmetlidir. Bunun yerine son yıllarda flow (akım) sitometrisi kullanılmaktadır. Akım sitometrisi, hücre bazında apoptoz tespiti için yeni ve basit bir yöntemdir. Hücrelerin plazma membranları, ağırlıklı olarak dış yüzeyinde fosfatidilkolin ve sfingomyelin ve iç yüzeyinde fosfatidiletanolamin ve fosfatidilserin ile önemli bir fosfolipid asimetrisi meydana getirirler. Apoptoz giren bir hücrenin fosfolipid asimetri kaybolur. Anneksin-V fosfatidilserin gibi negatif yüklü fosfolipidlere bağlanmaktadır. Apoptotik hücreler floresan izotiyosiyanat (FITC) etiketli anneksin-V ile kolayca ölçülebilmektedir. Flow sitometride kullanılan floresan boyalar pahalı değildir ve apoptotik hücreleri ancak membran hasarından sonra boyarlar. Hücreler

apoptoz indükleyici koşullar altında kültürlendiğinde, kromatin yoğunlaşması gösteren tüm hücreler, anneksin-V ile güçlü bir şekilde boyanırken, normal hücreler anneksin-V negatiftir (Koopman ve diğerleri, 1994). Propidium iyodür (PI) ise DNA'ya bağlanan ancak sağlam bir plazma zarına sahip hücrelere pasif olarak geçemeyen küçük bir floresan moleküldür. Propidium iyodür, ölü hücreleri, sağlam zarlara sahip canlı hücrelerden ayırmak için kullanılabilir. PI, 400 ila 600 nm arasındaki dalga boyları tarafından uyarılır ve 600 ila 700 nm arasında ışık (kırmızı) yayar ve bu nedenle akış sitometrisindeki yaygın olarak bulunan lazerler ve fotodetektörlerle uyumludur (Crowley ve diğerleri, 2016).

## **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. Gereç**

#### **3.1.1. Cihazlar**

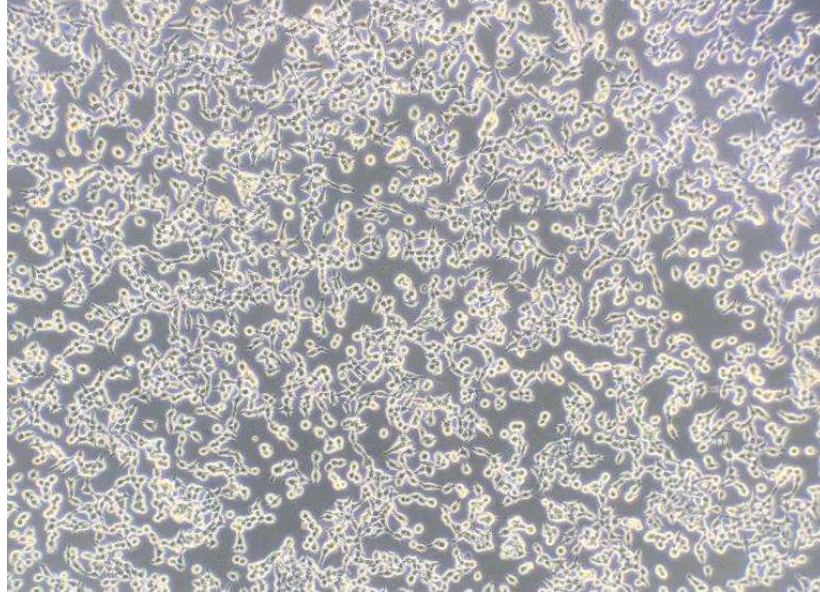
Çalışma kapsamında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalında bulunan ışık mikroskobu, spektrofotometre, inkübatör, su banyosu, biyogüvenlik kabini, flow sitometri cihazı (muse® cell analyzer), buzdolabı/derin dondurucu ve vortex kullanıldı.

#### **3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

Kanser hücrelerinin büyümesi ve çoğalabilmesi için RPMI-1640 besiyeri kullanıldı. Kontaminasyonu engellemek için %2 penisilin-streptomisin solüsyonu ve besiyerini zenginleştirmek için %10 steril FBS solüsyonu hazırlandı. Pasajlama işlemi için hücreleri flasklardan ayırmada Tripsin kullanıldı. Canlı/cansız hücrelerin sayımı için tripan mavisi kullandı.

#### **3.1.3. Hücre Hattı**

Çalışmada insan prostat kanseri hücre hattı olarak DU145 (ATCC) kullanıldı. Bu hücreler 69 yıl yaşında prostat kanseri beyaz bir erkekten izole edilmiştir.



**Resim 1.** DU145 kanser hücre hattının mikroskopik görüntüsü

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Hücre Kültürü**

#### **3.2.1.1. Hücrelerin Hazırlanması**

Ticari olarak satın alınan prostat kanseri hücrelerine çözündürme protokolü uygulandı. Bunun için hücreler 37 °C'lik su banyosunda hızla çözdürüldü. Ardından hücre çözeltisinden 1 ml, 9 ml taze hazırlanmış besiyerine eklendi ve pipetaj yapıldı. Daha sonra 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Pellet üzerine 4 ml taze besiyeri eklendi ve pipetaj yapılarak iyice süspansiyon edildi. Bu aşamadan sonra ticari olarak satın alınan RPMI-1640 besiyerine, %10 steril FBS ve %2 oranında penisilin-streptomisin eklendi ve 25 cm<sup>2</sup>'lik flaska aktarıldı. Ardından hazırlanan hücre süspansiyonundan 1 ml'si bu flaska eklendi ve 37 °C'lik, %5 CO<sub>2</sub>'li inkübatöre kaldırıldı.

#### **3.2.1.2. Hücrelerin Pasajlanması**

24-48 saat inkübasyonun ardından flask inkübatörden çıkartıldı ve ışık mikroskobu altında inceledi. Hücreler flaskın zeminini kaplamasıyla pasajlama işlemine geçildi. Bunun için biyogüvenlik kabininde üzerine kaplayacak şekilde tripsin solüsyonu eklendi. Ardından mikroskop altında hücrelerin flasktan ayrılıp ayrılmadığı gözlemlendi. Ardından tripsini inhibe etmek için kompleks besiyerinden, kullanılan tripsin hacminin en az iki katı kadar eklendi. Ardından bu süspansiyon falcon tüplerine aktarıldı ve 5 dakika 1000 rpm’de santifüj edildi. Süpernatant uzaklaştırıldı ve pellet üzerine taze besiyeri ilave edildi. Daha sonra 2 farklı flaska paylaştırıldı.

### 3.2.1.3. Hücre Sayımı

Canlı/cansız hücrelerin belirlenebilmesi için hücre sayımı yapıldı. Bunun bir birim hücre süspansiyonu, bir birim tripan mavisi ile aynı orantıda karıştırıldı ve thoma lamına aktarılarak ışık mikroskobunda sayıldı.

### 3.2.2. MTS/PMS Testi

*Centella asiatica* ve Dosetaksel için optimum doz belirleme çalışması MTS/PMS testi ile yapıldı. İlk olarak 96 kuyucuklu plate’in her bir kuyucuğuna 5.000 hücre olacak şekilde hesaplama yapıldı ve her kuyuya 100 µl hücre süspansiyonundan eklendi. Daha sonra hücrelerin yapışabilmesi için 24 saat inkübasyona bırakıldı.

Ardından 96 kuyucuklu plate steril kabinde supernatant kısımları çekilerek atıldı. Ardından ortamdaki besiyerleri uzaklaştırıldı. *Centella asiatica* için kuyucuklara eklenen miktar sırasıyla 10 µl, 12 µl, 14 µl, 16 µl, 18 µl ve 20 µl idi. İlk sütun kontrol, son sütun ise blank olarak belirlendi. Dosetaksel için ise kuyucuklara sırasıyla 1 nM, 2 nM, 4 nM, 6 nM, 8 nM, 10 nM, 20 nM olacak şekilde stok solüsyondan seyreltme işlemi yapılarak eklendi.

Uygulaması yapılan *centella asiatica* için 24 saat ve 48 saat inkübatörde bekletildi. Dosetaksel için 24 saat inkübatörde bekletildi. Süre sonunda supernatant kısımları atılmadı. Boş bir falcon tüpüne 2 ml MTS, 100 µl PMS eklendi ve homojen olması için vorteks yapıldı. Karanlık bir ortamda her kuyucuğa 20 µl MTS/PMS solüsyonu pellete dokundurulmadan



dikkatlice pipetleme yapıldı. Ardından 4 saat inkübatörde bekletildi. Bu süre sonunda spektrofotometrede 490 nm dalga boyunda okuma yapıldı.

### **3.2.3. Flow Sitometri Analizi**

Bu test için 6'lı hücre kültürü plakları kullanıldı. Test grupları iki tekrarlı olarak çalışıldı ve her kuyuya 500.000 hücre eklendi. Test grupları ise kontrol, dosetaksiel, centella asiatica ve kombinasyon (dosetaksiel + centella asiatica) olarak belirlendi. Daha sonra hücrelerin yapışabilmesi için plaklar 24 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda besiyeri çekilerek atıldı. Kontrol gruplarına tekrar taze besi yeri eklendi. Diğer gruplara ilaçların IC<sub>50</sub> değerindeki konsantrasyondan ekleme yapıldı. Daha sonra 48 saat %5 CO<sub>2</sub> içeren 37° inkübatöre bırakıldı.

Bu süre sonunda hücre ölümü gerçekleşen hücreler üst faza geçtiği için tüm kuyulardaki süpernatantlar çekilerek boş falcon tüplerine aktarıldı. Canlı hücreleri elde etmek için ise tüm kuyulardaki pelletlere 1 ml tripsin eklendi, mikroskopta hücrelerin flasktan ayrılıp/ayrılmadığı kontrol edildi ve üzerlerine 2 ml besiyeri ilave edildi. Daha sonra bu süspansiyon, ölü hücrelerin bulunduğu falcon tüpleriyle birleştirildi. Ardından falcon tüpleri santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Falcon tüplerine 350 ml taze besiyeri eklendi ve pipetaj yapıldı. İyice homojen olması için kısa bir vorteksleme yapıldı. Anneksin-V kitinde bulunan solüsyondan her falcon tüpün 100 µl eklendi ve iyice pipetaj yapıldı. Negatif kontrol amacıyla kit içinde bulunan solüsyondan eklenmeyen bir falcon tüpü daha oluşturuldu. Ardından oda sıcaklığında 30 dk inkübasyona bırakıldı. Ardından bu solüsyonlar eppendorf tüplerine 200 µl olacak şekilde porsiyonlandı. Son olarak eppendorf tüpleri 5 dakika santrifüj edildi ve süpernatat atıldı. Üzerlerine kitteki yıkama solüsyonu eklenendi ve kısa bir vorteks yapılarak flow sitometri cihazına okutuldu.

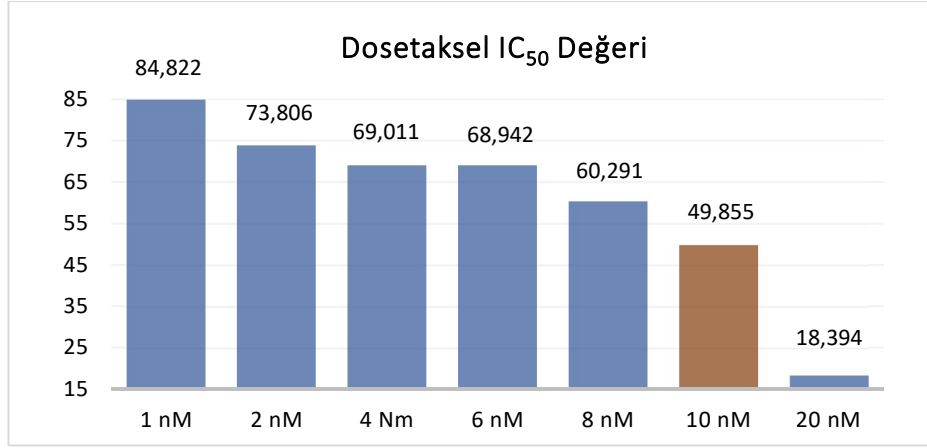
### **3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme**

SPSS (Statistical Packag for Social Sciences) programı ile her grubun Anneksin-V sonuçları kullanılarak tekrarlı verilerin aritmetik ortalaması alındı ve gruplar arasındaki değişkenler grafik üzerinde yüzdesel farklara göre kıyaslandı.

## 4. BULGULAR

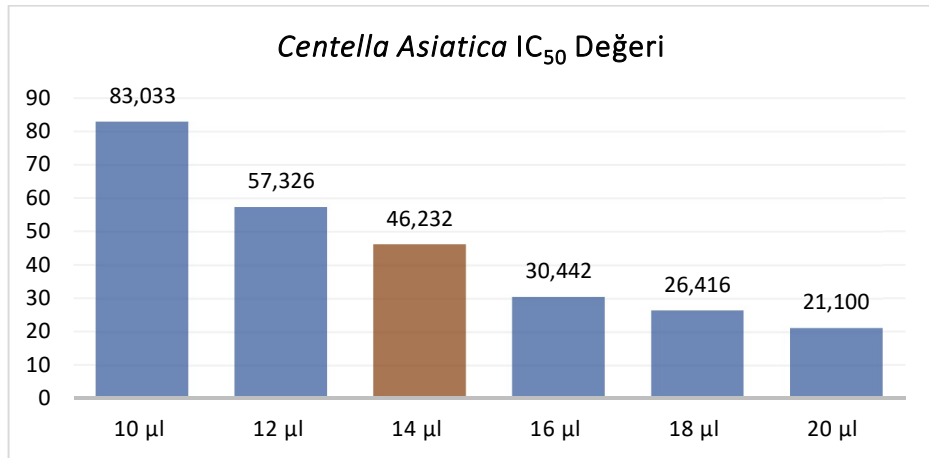
### 4.1. IC<sub>50</sub> Değerleri

#### 4.1.1. Dosetaksel IC<sub>50</sub> Değeri



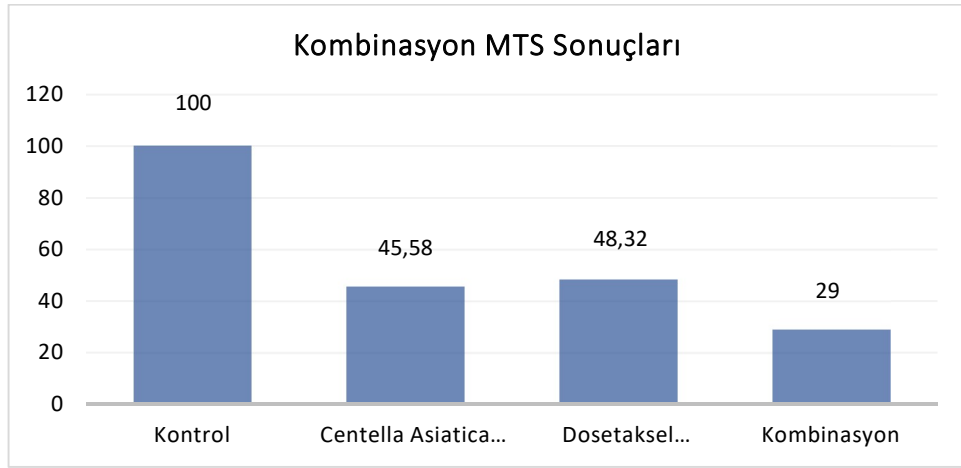
Şekil 2. Dosetaksel IC<sub>50</sub> Değeri

#### 4.1.2. *Centella Asiatica* IC<sub>50</sub> Değeri



Şekil 3. *Centella Asiatica* IC<sub>50</sub> Değeri

## 4.2. Kombinasyon MTS Sonuçları

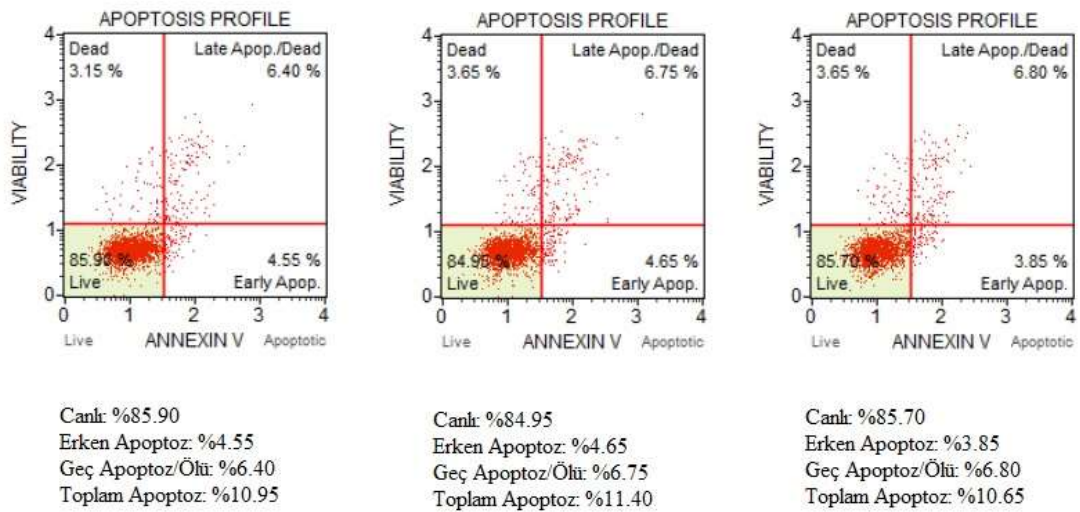


Şekil 4. Kombinasyon MTS Sonuçları

## 4.3. Flow Sitometri Sonuçları

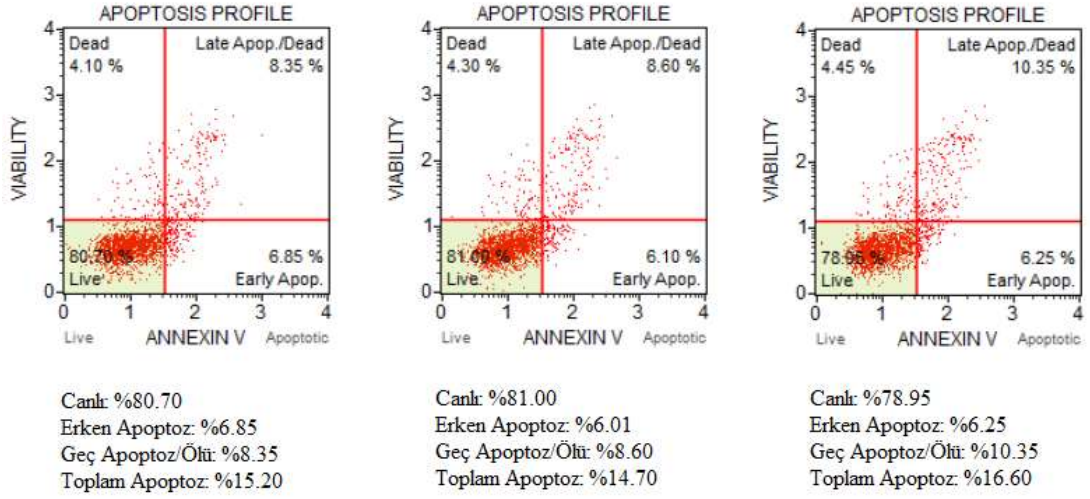
Tüm test grupları üç tekrarlı olarak çalışılmıştır.

### 4.3.1 Kontrol Grubu Flow Sitometri Sonuçları



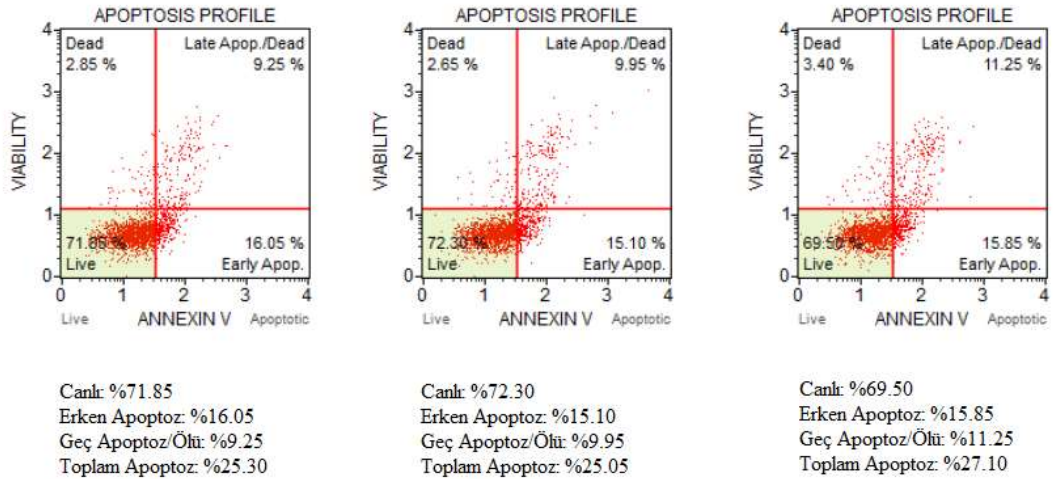
Şekil 5. Kontrol Grubu Flow Sitometri Sonuçları

### 4.3.2. Doksetaksel Grubu Flow Sitometri Sonuçları



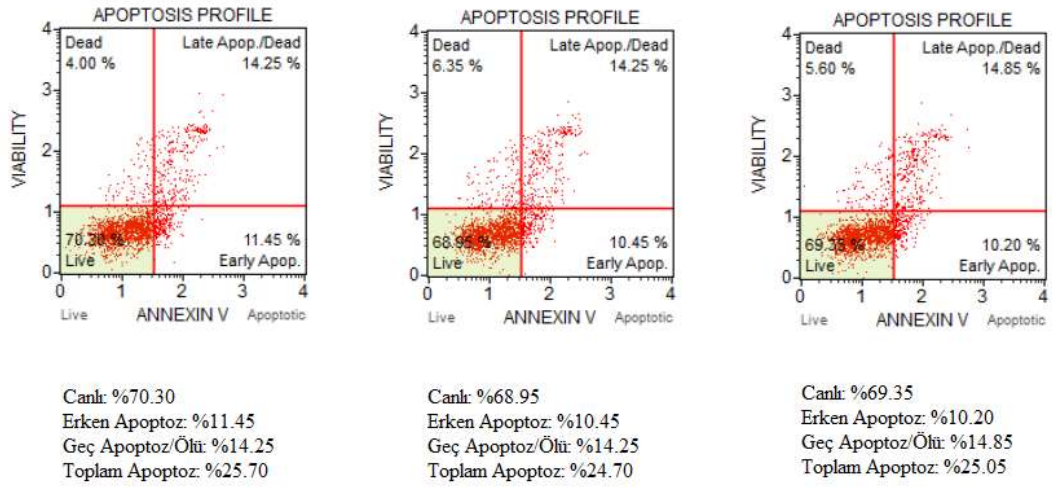
Şekil 6. Doksetaksel Grubu Flow Sitometri Sonuçları

### 4.3.3. Centella Asiatica Grubu Flow Sitometri Sonuçları



Şekil 7. Centella Asiatica Grubu Flow Sitometri Sonuçları

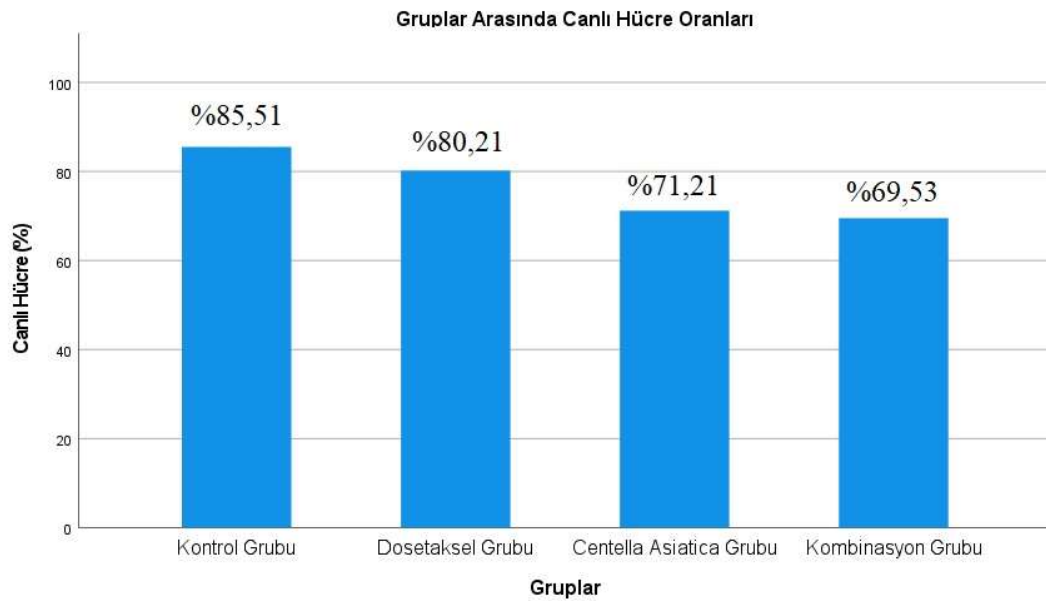
#### 4.3.4. Kombinasyon Grubu Flow Sitometri Sonuçları



Şekil 8. Kombinasyon Grubu Flow Sitometri Sonuçları

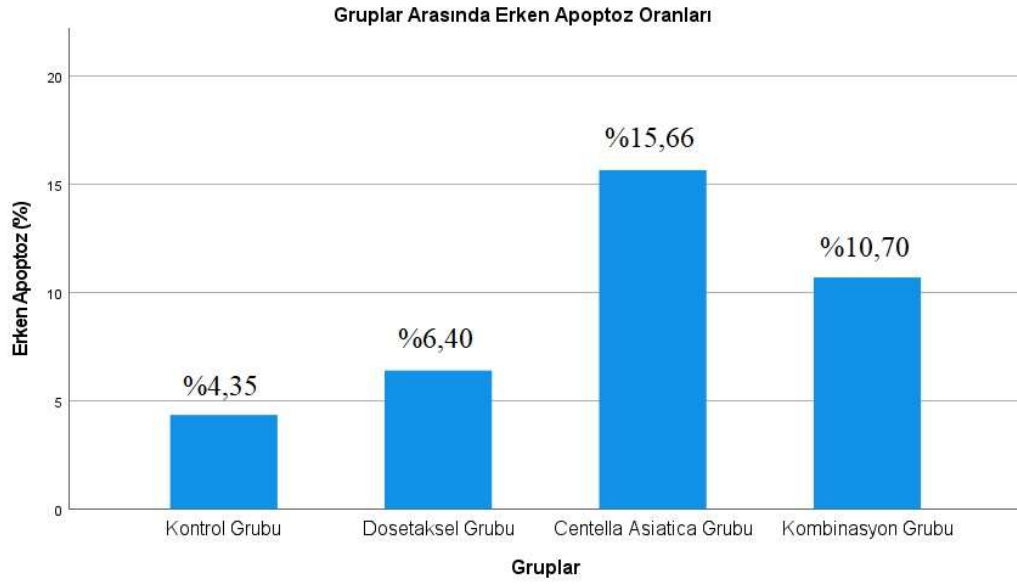
#### 4.4. İstatistiksel Sonuçlar

##### 4.4.1. Canlı Hücre Sonuçları



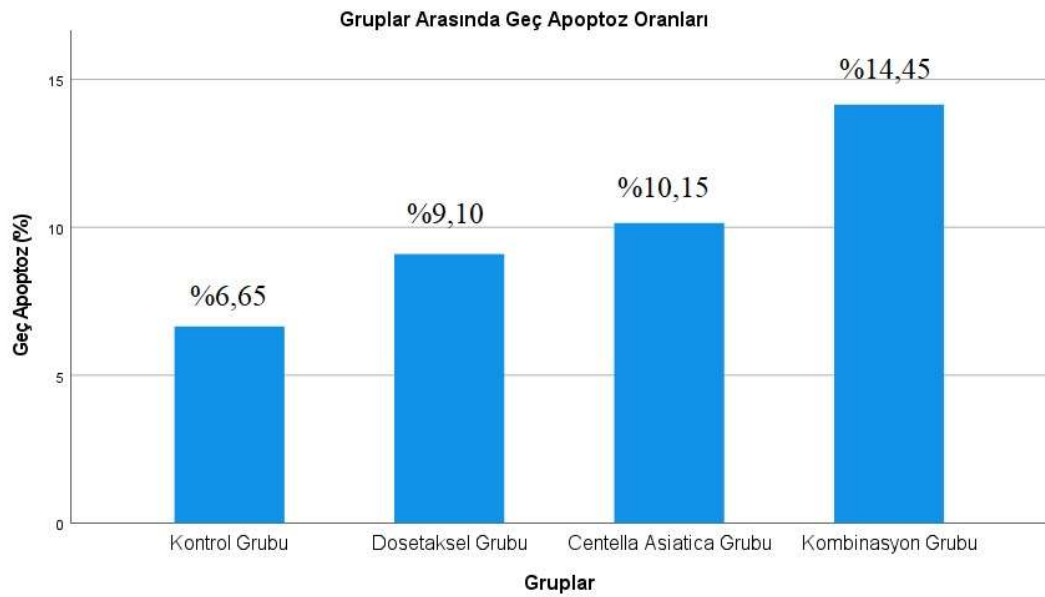
Şekil 9. Canlı Hücre Sonuçları

#### 4.4.2. Erken Apoptoz Sonuçları



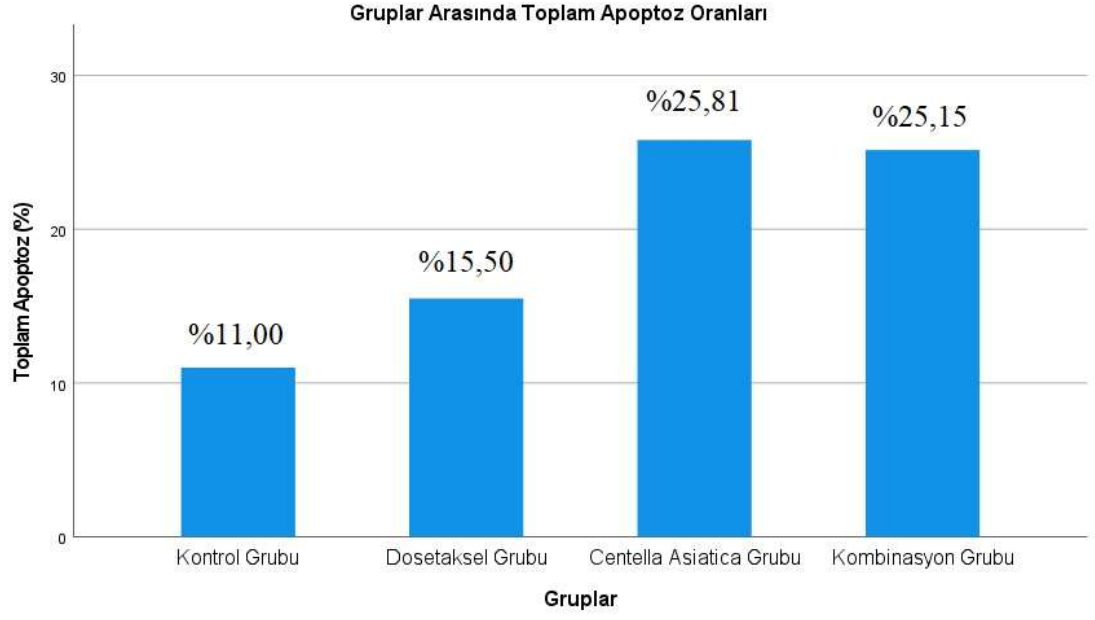
Şekil 10. Erken Apoptoz Sonuçları

#### 4.4.3. Geç Apoptoz Sonuçları



Şekil 11. Geç Apoptoz Sonuçları

#### 4.4.4. Toplam Apoptoz Sonuçları



Şekil 12. Toplam Apoptoz Sonuçları

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda canlı hücre, kombinasyon grubunda en az orandayken bunu sırayla *centella asiatica* ve dosetaksel grubu takip etmektedir. Bu durum kombinasyon grubunda ilaç-ilaç etkileşiminin hücre canlılık seviyesine doğrudan bir etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Kemoterapötik ilaçlarla birçok madde etkileşerek bu ilaçların aktivitelerini arttırabilmekte veya azaltabilmektedir. Örneğin, bir kemoterapötik olan oxaplatin, %0,9 izotonik sodyum klorür çözeltisi içinde etkinliğini kaybetmektedir. Bunun için oxaplatin, %5'lik desktröz çözeltisi içinde hazırlanmaktadır (Mehta ve diğerleri, 2015).

Erken apoptoz, *centella asiatica* grubunda en yüksek orandayken bunu sırayla kombinasyon ve dosetaksel grubu takip etmektedir. Erken apoptoz, tüm apoptotik sürecin temelini oluşturan kritik bir basamaktır. Apoptoz yolağı aktive olan bir hücre membran dinamiği bozulmadan önce bir takım biyokimyasal değişikliklere uğrar. Bunlardan en önemlisi hücre membranının intrasellüler kısımda bulunan fosfotidilserinin, ekstrasellüler kısma geçmesidir. Bu durum, apoptoza uğrayan bir hücreyi erken aşamada analiz edilebilir hale getirir. Çalışmamızda ise *centella asiatica* ile muamele edilen kanser hücrelerinin diğer gruplara göre en yüksek seviyede erken apoptoza uğradıkları görülmektedir. Bu sonuç *centella asiatica*'nın başarılı bir kemoterapötik ajan olma yolunda umut vaad eden bir gelişmedir. Ayrıca kombinasyon grubunda erken apoptoz oranları *centella asiatica* grubuna göre düşüş sağlarken, kontrol ve dosetaksel grubuna göre artış göstermektedir. Bu durum kişinin farmakogenetik (sitokrom P450 enzim sistemi/ilaç metabolizması) yapısına veya ilaç-ilaç etkileşimine göre değişebilmektedir.

Geç apoptoz ise kombine grubunda en yüksek orana sahipken bunu sırayla *centella asiatica* ve dosetaksel grubu takip etmektedir. Erken ve geç apoptoz oranları kıyaslandığında dosetaksel için şu çıkarım yapılabilir; dosetaksel-*centella asiatica* kombinasyonu erken apoptoz evresinde akut (hızlı) olmayan bir metabolizmaya uğramaktadır. Bu durum zamanla etkili bir ilaç kombinasyonu ile birlikte geç apoptoz evresinde maksimum verime ulaşmaktadır.

Toplam apoptoz ise *centella asiatica* ve kombinasyon gruplarında yaklaşık aynı oranlara (% 0,66'lık fark) sahipken, bunu dosetaksel grubu takip etmektedir. Toplam apoptoz oranları göz önüne alındığında nihai hedef olarak prostat kanseri hücreleri dosetaksel grubuna göre çok daha fazla apoptoza uğramışlardır. Bu sonuçlara göre *centella asiatica* bileşikleri, prostat kanseri hücrelerinde başarılı bir şekilde apoptozu indüklemiştir. Ayrıca kemoterapötik bir



ajanla (dosetaksel) kombine edilmesi aktivitesini önemli ölçüde değiştirmemiştir. Çalışmamızın sonuçları *centella asiatica*'nın literatürdeki farklı kanser hücreleri üzerindeki apoptoz indükleyici etkisini destekler niteliktedir.

Tüm bunlara ek olarak *centella asiatica*'da bulunan asiyatik asit, kanser hücrelerinde mitokondriyal disfonksiyonu indüklemekte ve otofagozomların artışını desteklemektedir (Wu ve diğerleri, 2017). Buna ek olarak asiyatik asit, apoptozda oldukça önemli bir enzim olan kaspaz-3'ün aktivasyonunuda arttırmaktadır (Bunpo ve diğerleri, 2005). Tüm bu etkiler göz önüne alındığında asiyatik asit, kanser hücrelerinde hem apoptoz hem de otofaji kaynaklı hücre ölümünü tetiklemektedir. Literatürdeki bu bilgiler ile çalışmamız arasında bir paralellik bulunmaktadır. *Centella asiatica*'nın kanser hücrelerinde ölüm yollarını başarılı bir şekilde aktive etmesi onu başarılı bir hücre ölümü indükleyicisi yapmaktadır.

*Centella asiatica*'da bulunan bir diğer önemli bileşik ise madecassoid'dir. Madecassoid, oksidatif stres altında indüklenen kalsiyum birikimini engellemektedir. Böylelikle oksidatif strese karşı mitokondriyi korumaktadır (Ling ve diğerleri, 2017). Bitkide bulunan triterpenoid glikozitler, anti-alerjik, anti-inflamatuar ve anti-pruritik aktivitelerden sorumlu olup (George ve Joseph, 2009), çok yönlü etkilere sahiptir. *Centella asiatica*'nın anti-inflamatuar etkisi, inflamatuvar hastalıkların tedavisinde potansiyel bir ilaç haline getirebilir.

Ayrıca *centella asiatica* özü, epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT), miyofibroblast oluşumunu, inflamasyonu ve tübüler hasarı azaltarak böbrek fibrozunun ilerlemesini azaltmaktadır (Sari D. ve diğerleri, 2021). Benzer bir çalışmada da *Centella asiatica*'da bulunan asiaticoside'nin kronik inflamasyonda rol oynayan IL-1 $\beta$  ve TNF-alfa ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur (Al-saeedi, 2014). IL-1 $\beta$  ve TNF-alfa, hücre proliferasyonunda, farklılaşmasında ve anjiyogenezde oldukça önemli rol oynamaktadır. Bir tümör hücresi prolifere oldukça yeni mutasyonlar biriktirmekte ve heterojenitesini artırmaktadır. Dolayısıyla proliferasyon, kanserleşmeye giden yolda kritik öneme sahiptir. *Centelle asiatica*, proliferasyonu başlatan ve devam ettiren IL-1 $\beta$ , TNF-alfa gibi birçok biyomolekülün ekspresyonunu azaltmaktadır. Bu açıdan bakıldığında *centella asiatica* sadece hücre ölüm yolağı üzerinden değil inflamatuvar sitokinler üzerinden de kanseri baskılayabilmektedir.

Bu çalışma ile *centella asiatica*'nın hücre ölümü üzerindeki etkileri prostat kanseri hücrelerinde araştırılmış olup, başarılı sonuçlar alınmıştır. *Centella asiatica*'nın üretim maliyetinin düşük olması, kolay erişimi ve yüksek verimliliği ile yeni bir kemoterapötik ajan olma yolunda hızla ilerlemektedir. Elde edilen sonuçlar modern çağın en önemli sorunlarından

biri olan kanser hastalığının erkeklerdeki en yüksek insidansına sahip olan prostat kanseri için umut vaad edici niteliktedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Türkiye’de ve dünyada *Centella asiatica* özütü gerek ilaç sektöründe (özellikle yara kremleri) gerek kozmetik sektöründe seri olarak üretilip piyasaya sunulmaktadır. Son yıllarda bitkisel tedavilere artan ilgi *Centella asiatica* gibi güçlü bilimsel verilere sahip olan bitki ekstratlarının popülaritesini arttırmıştır. Bunun yanında bilinçsiz kullanımın olası yan etkileri hakkında gerekli çalışmaların yapılması gerekmektedir. Apoptoz deneyleri özellikle kanser araştırmalarında önemli bir yere sahiptir. Çalışmamız bu açıdan ele alındığında yeni in-vitro ve/veya in-vivo testlere öncülük etme potansiyelinde olup, literatürdeki verilerle paralellik göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- Al-Saedi, F. J. (2014). Study of the cytotoxicity of asiaticoside on rats and tumour cells. *BioMed Central Cancer*, 14(1), 1-13. <https://doi:10.1186/1471-2407-14-220>
- Bandara, M. S., Lee, E. L., & Thomas, J. E. (2011). Gotu Kola (*Centella asiatica* L.): An Underutilized Herb. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, 5(2), 20-31.
- Bardia, A., Platz, E. A., Yegnasubramanian, S., De Marzo, A. M., & Nelson, W. G. (2009). Anti-inflammatory drugs, antioxidants, and prostate cancer prevention. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(4), 419-426. <https://doi:10.1016/j.coph.2009.06.002>
- Bunpo, P., Kataoka, K., Arimochi, H., Nakayama, H., Kuwahara, T., Bando, Y., ... & Ohnishi, Y. (2004). Inhibitory effects of *Centella asiatica* on azoxymethane-induced aberrant crypt focus formation and carcinogenesis in the intestines of F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*, 42(12), 1987-1997. <https://doi:10.1016/j.fct.2004.06.022>
- Bunpo, P., Kataoka, K., Arimochi, H., Nakayama, H., Kuwahara, T., Vinitketkumnuen, U., & Ohnishi, Y. (2005). Inhibitory effects of asiatic acid and CPT-11 on growth of HT-29 cells. *The Journal of Medical Investigation*, 52 (1,2), 65-73. <https://doi.org/10.2152/jmi.52.65>
- Bylka, W., Znajdek-Awiżeń, P., Studzińska-Sroka, E., Dańczak-Pazdrowska, A., & Brzezińska, M. (2014). *Centella asiatica* in dermatology: an overview. *Phytotherapy Research*, 28(8), 1117-1124. <https://doi.org/10.1002/ptr.5110>
- Chu, E., & Sartorelli, A. C. (2014). *Kanser Kemoterapisi*. Temel ve Klinik Farmakoloji. 54. Bölüm. Syf: 963-964. ISBN: 978605335602. Nobel Tıp Kitapevi.
- Cooper, C. S., & Foster, C. S. (2009). Concepts of epigenetics in prostate cancer development. *British Journal of Cancer*, 100(2), 240-245. <https://doi:10.1038/sj.bjc.6604771>
- Crowley, L. C., Scott, A. P., Marfell, B. J., Boughaba, J. A., Chojnowski, G., & Waterhouse, N. J. (2016). Measuring cell death by propidium iodide uptake and flow cytometry. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2016(7), pdb-prot087163. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot087163>

- Cui, Q., Ren, J., Zhou, Q., Yang, Q., & Li, B. (2019). Effect of asiatic acid on epithelial-mesenchymal transition of human alveolar epithelium A549 cells induced by TGF- $\beta$ 1. *Oncology Letters*, *17*(5), 4285-4292. <https://doi:10.3892/ol.2019.10140>
- George, M., & Joseph, L. (2009). Anti-allergic, anti-pruritic, and anti-inflammatory activities of *Centella asiatica* extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, *6*(4). <https://doi:10.4314/ajtcam.v6i4.57206>
- Hashim, P., Sidek, H., Helan, M. H. M., Sabery, A., Palanisamy, U. D., & Ilham, M. (2011). Triterpene composition and bioactivities of *Centella asiatica*. *Molecules*, *16*(2), 1310-1322. <https://doi:10.3390/molecules16021310>
- Hussin, F., Eshkoo, S. A., Rahmat, A., Othman, F., & Akim, A. (2014). The *Centella asiatica* juice effects on DNA damage, apoptosis and gene expression in hepatocellular carcinoma (HCC). *BioMed Central Complementary and Alternative Medicine*, *14*(1), 1-7. <https://doi:10.1186/1472-6882-14-32>
- James, J. T., & Dubery, I. A. (2009). Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.) Urban. *Molecules*, *14*(10), 3922-3941. <https://doi:10.3390/molecules14103922>
- Koopman, G., Reutelingsperger, C. P., Kuijten, G. A., Keehnen, R. M., Pals, S. T., & Van Oers, M. H. (1994). Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis. *Blood*, *84*(5), 1415-1420. <https://doi.org/10.1182/blood.V84.5.1415.1415>
- Kwon, J. T. W., Bryant, R. J., & Parkes, E. E. (2021). The tumor microenvironment and immune responses in prostate cancer patients. *Endocrine-Related Cancer*, *28*(8), T95-T107. <https://doi:10.1530/ERC-21-0149>
- Lee, Y. S., Jin, D. Q., Kwon, E. J., Park, S. H., Lee, E. S., Jeong, T. C., ... & Kim, J. A. (2002). Asiatic acid, a triterpene, induces apoptosis through intracellular Ca<sup>2+</sup> release and enhanced expression of p53 in HepG2 human hepatoma cells. *Cancer Letters*, *186*(1), 83-91. [https://doi:10.1016/s0304-3835\(02\)00260-4](https://doi:10.1016/s0304-3835(02)00260-4)
- Leslie SW, Soon-Sutton TL, Sajjad H, et al. (2022). Prostate Cancer. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470550/>
- Ling, Y., Gong, Q., Xiong, X., Sun, L., Zhao, W., Zhu, W., & Lu, Y. (2017). Protective effect of madecassoside on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress and autophagy activation in human

melanocytes. *Oncotarget*, 8(31), 51066. <https://doi:10.18632/oncotarget.17654>

- Mehta, A. M., Van den Hoven, J. M., Rosing, H., Hillebrand, M. J. X., Nuijen, B., Huitema, A. D. R., ... & Verwaal, V. J. (2015). Stability of oxaliplatin in chloride-containing carrier solutions used in hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *International Journal of Pharmaceutics*, 479(1), 23-27. <https://doi:10.1016/j.ijpharm.2014.12.025>
- Nagoor Meeran, M. F., Goyal, S. N., Suchal, K., Sharma, C., Patil, C. R., & Ojha, S. K. (2018). Pharmacological properties, molecular mechanisms, and pharmaceutical development of asiatic acid: a pentacyclic triterpenoid of therapeutic promise. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 892. <https://doi:10.3389/fphar.2018.00892>
- Orhan, I. E., Loizzo, M. R., & Khan, M. T. H. (2012). Therapeutic approaches to neuroprotective activity by complementary and alternative medicines. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/946259>.
- Puttarak, P., Dilokthornsakul, P., Saokaew, S., Dhippayom, T., Kongkaew, C., Sruamsiri, R., ... & Chaiyakunapruk, N. (2017). Effects of *Centella asiatica* (L.) Urb. on cognitive function and mood related outcomes: A Systematic Review and Meta-analysis. *Scientific Reports*, 7(1), 1-12. <https://doi:10.1038/s41598-017-09823-9>
- Sari, D. C. R., Budiharjo, S., Afifah, H., Jasmin, D., Kokasih, O., Putri, T. G., ... & Arfian, N. (2021). *Centella asiatica* Extract Attenuates Kidney Fibrosis Through Reducing Mesenchymal Transition and Inflammation in Ureteral Ligation Model in Mice. *Frontiers in Pharmacology*, 12, 621894. <https://doi:10.3389/fphar.2021.621894>
- Sedef, A. M., (Eds.). (2020). *Temel Onkoloji*. Akademisyen Kitabevi. 55. Bölüm. Syf: 425-426-427. ISBN:9786257275187
- Singh, O., & Bolla, S. R. (2021). Anatomy, abdomen and pelvis, prostate. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK540987/>
- Sun, B., Wu, L., Wu, Y., Zhang, C., Qin, L., Hayashi, M., ... & Liu, T. (2020). Therapeutic potential of *Centella asiatica* and its triterpenes: A review. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 568032. <https://doi:10.3389/fphar.2020.568032>
- Tang, X. L., Yang, X. Y., Jung, H. J., Kim, S. Y., Jung, S. Y., Choi, D. Y., ... & Park, H. (2009). Asiatic acid induces colon cancer cell growth inhibition and apoptosis through mitochondrial death cascade. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(8), 1399-1405. <https://doi:10.1248/bpb.32.1399>

- Wang, G., Zhao, D., Spring, D. J., & DePinho, R. A. (2018). Genetics and biology of prostate cancer. *Genes & Development*, 32(17-18), 1105-1140. <https://doi:10.1101/gad.315739.118>
- Wu, T., Geng, J., Guo, W., Gao, J., & Zhu, X. (2017). Asiatic acid inhibits lung cancer cell growth in vitro and in vivo by destroying mitochondria. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 7(1), 65-72. <https://doi:10.1016/j.apsb.2016.04.003>

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“Prostat Kanseri Hücrelerinde *Centella Asiatica*’nın Hücre Ölümü Üzerine Etkileri” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

İmza

Furkan Dilek

... / ... / ...



## ÖZ GEÇMİŞ

**Soyadı, Adı** : DİLEK, Furkan  
**Uyruk** : T.C.  
**Doğum yeri ve tarihi** : DOĞANHISAR / 10.10.1994  
**Telefon** : 0 535 289 65 95  
**E-posta** : schrader-4@protonmail.com  
**Yabancı dil** : İngilizce

## EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Y. Lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Temel Onkoloji ve Kanser Biyolojisi Programı	2019-2022
Lisans	Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü	2014-2018