

Betamethasone Valeratın (BMV) MDA-MB 231 Meme Kanseri Hücre Dizisi Üzerindeki Sitotoksik ve Anti-Proliferatif Etkilerinin İncelenmesi

Investigation of Cytotoxic and Anti-proliferative Effects of Betamethasone Valerate (BMV) on MDA-MB 231 Breast Cancer Cell Line

Onur Eroğlu^{1,2}

¹ Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik, Türkiye

² Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Bilecik, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bir kortikosteroid olan betametazon valeratın meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231’de etkisinin literatürde ilk defa incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında insan meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231’de betametazon valeratın kullanılabilirliği ve buna bağlı olarak sitotoksik etkisinin var olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Buna göre hücre kültürünü takiben, hücre canlılık testi yapılmıştır. Daha sonra sağkalım deneyi gerçekleştirilmiştir. İlacın hücreler üzerindeki migrasyonunu ölçmek için yara iyileşme deneyi ve anti-proliferatif etkisini ölçmek için ise koloni oluşum deneyi yapılmıştır. Yapılan tüm değerler en az 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve Graph Pad 4.04 istatistik programı ile istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Sağkalım deneyleri sonuçlarına göre, Betametazon valerat uygulanan hücrelerde yüksek oranda bağlı hücre ölümü saptanmıştır. Ayrıca hücrelere BMV uygulanmasıyla hücre proliferasyonu azaldığı ve yara iyileşmesi engellendiği gözlenmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak, betametazon valeratın MDA-MB-231 insan meme kanseri hücreleri için güçlü bir öldürücü olduğu tespit edilmiştir. Bu durum betametazon valeratın kanser endokrin tedavisinde kullanılabilirliğinin tespitine ışık tutulabilir.

Anahtar Sözcükler: Meme Kanseri, Betametazon Valerat, MDA-MB-231, Sitotoksitesite

Geliş Tarihi: 02.07.2018

Kabul Tarihi:10.09.2018

ABSTRACT

Objectives: We aimed to investigate the effects of betamethasone valerate on MDA-MB-231 human breast cancer cells for the first time in the literature.

Methods: In the study, it was tried to determine the availability and the cytotoxicity effect of betamethasone valerate in the human breast cancer cell line MDA-MB-231. Cell viability was tested after cell culturing. Survival tests were then performed. Wound healing test was performed in order to measure the migration of the cells. Also colony formation test was carried out to measure the anti-proliferative effect. All values were made as at least 3 repetitions and statistical analyzes were performed with the Graph Pad 4.04 statistical program.

Results: According to the results of surveillance experiments, high relative cell death was detected in cells treated with betamethasone valerate. In addition, cell proliferation decreased and wound healing was inhibited by BMV application in the cells.

Conclusion: In conclusion, betamethasone has been found to be a potent killer for MDA-MB-231 human breast cancer cells. This may explain the utility of betamethasone valerate in cancer endocrine therapy.

Key Words: Breast Cancer, Betamethasone Valerate, MDA-MB-231, Cytotoxicity

Received:07.02.2018

Accepted:09.10.2018

Bu çalışmanın bir kısmı 27-30 Mayıs 2017 tarihinde Avrupa İnsan Genetiği Konferansında (European Society of Human Genetics Conference) poster olarak sunulmuştur.

Yazışma Adresi / Address for Correspondence: Dr.Öğr.Üye.Onur Eroğlu, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bilecik,Türkiye E-posta: onur.eroglu@bilecik.edu.tr

©Telif Hakkı 2018 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi – Makale metnine <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/> web adresinden ulaşılabilir.

©Copyright 2018 by Gazi University Medical Faculty - Available on-line at web site <http://medicaljournal.gazi.edu.tr/>

doi:<http://dx.doi.org/10.12996/gmj.2018.89>

GİRİŞ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (1). Meme kanserinin bugün bilinen etkili tedavisi tümörün ve tümörden kopan tümör hücrelerinin yayıldığı lenf nodlarının cerrahi olarak çıkarılmasıdır (2). Bununla birlikte kanser hücrelerini öldürmek veya çoğalmalarını engellemek için yüksek enerjili x-ışınları veya diğer türde radyasyonun kullanıldığı bir kanser tedavisi türü olan radyoterapi ve antikanser ilaçlarının kullanılarak tümörlerin büyümesinin önlenmesi ya da kontrol altına alınmasını sağlayan kemoterapi, kullanılan tedavi türleridir. Bunların yanı sıra son yıllarda hormonal terapi yönteminden de yararlanılmaktadır (3). Hormon tedavisi (HT) menopozun getirdiği rahatsız edici bulguları ortadan kaldırmakta, osteoporozu önlemede ve kardiyovasküler hastalıklardan korunma sağlamaktadır. Son 30 yılda HT kullanımının kadının meme kanser riskini arttırdığına dair araştıran 50'den çok gözlemsel çalışma yayınlanmıştır, fakat sonuçlardaki tutarsızlık nedeniyle kesin bir sonuç elde edilememiştir (3,4).

Meme kanserinde tedavinin seçimi, tümörün özelliklerine, hastanın yaşına, sağlık durumuna, menopozal durumuna ve östrojen reseptör pozitifliğine bağlıdır. Endokrin tedavi postmenopozal hastalarda, kombine kemoterapi ise daha çok premenopozal hastalarda kullanılır (5).

Östrojen ve progesteron reseptörleri duktal ve lobuler hücrelerde luminal bölgede bulunmaktadır ve 25 yılı aşkın zamandır hormonal tedaviye cevap yeteneğini değerlendirmek amacıyla uygulanmaktadır. Meme tümörlerinin % 60-70'i östrojen reseptör (ER) (+) olduğu halde ancak bunların yarısı ile üçte ikisi hormonal tedaviye yanıt vermektedir. Buna karşılık ER (-) hastaların da bir kısmında hormon tedavisinden yararlanırlar. Bunun nedeni bilinmediği gibi, normal ve malign hücrelerdeki reseptörlerin yapısal ve işlevsel açıdan aynı özellikleri taşıyıp taşımadığı da henüz bilinmemektedir.

Endokrin tedaviye yanıtta önemli rol oynayan progesteron reseptör (PR) ekspresyonu, östrojen hormonu ve reseptörünün etkileşimi ile düzenlenmektedir. Normal insan meme epitelinde PR'nün ER'ne bağımlı olup olmadığı ve luminal hücrelerde bu iki reseptörün birlikte bulunup bulunmadığı tam olarak belirlenmemiştir. PR (+) kanserlerin %70'i hormonal tedaviye cevap verirken PR (-) kanserlerin de % 25-30 kadarı hormonal tedaviden faydalanır (6).

Meme kanserinde, endokrin tedavinin temel prensibi tümör hücresinin östrojenlerin (Estron (E1), Estradiol (E2), Estron sülfat (E1s)) büyüme uyarıcı özelliğinden yoksun bırakılmasıdır. Normal meme dokusunun büyüme ve çoğalması esas olarak östrojen ve prolaktin hormonları tarafından düzenlenir. Meme kanserinin ortaya çıkmasından ve ilerlemesinden primer olarak sorumlu olan östrojenlerdir (7).

Menopozdaki kadında meydana gelen morbiditeden, steroid hormonların dolaşımdan çekilmesi sorumludur. Seks steroidleri, hücrede doğrudan DNA hasarı yapmaz. Hücre çoğalmasını indükleyerek veya inhibe ederek tümörün progresyonunu etkiler. Seks steroidleri meme ve endometriyum kanserleriyle ilişkilidir, over ve kolon kanserinde ise olası bağıntıları mevcuttur (4).

Kortikosteroidler başlıca antiinflamatuvar, immünoşüpresif ve anti-proliferatif olarak üç etkiye sahiptirler (8). Kortikosteroidlerin etki gücü reseptöre bağlanma gücü ile ilişkilidir. Vücudun farklı bölgelerinde farklı reseptör dansitesi de etkilerinin boyutlarında önemli rol oynar. Kortikosteroid uygulamalarında stereoizomer olan betametazon (C16 b pozisyonunda) (Formül: $C_{27}H_{37}FO_6$) ve deksametazon (C16 a pozisyonunda) kullanılmaktadır. Betametazon molekülünün glukokortikoid reseptörlerine bağlanma eğiliminin fazla ve plazma yarılanma ömrünün uzun olması, etkisinin deksametazon molekülüne göre daha belirgin olmasını açıklamaktadır. Betametazon 36-54 saatlik yarı ömrü ve uzun etki süresi ile endotel hücrelerinin, makrofaj, eozinofil, T lenfosit ve mast hücrelerinin sitokin üretimini inhibe ederek güçlü antiinflamatuvar etki gösterir (9).

Bu çalışmanın amacı üç'lü negatif meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231'de literatürde ilk defa glukokortikoid olan betametazon valeratın hücre canlılığı üzerine olan etkilerini incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hücre Kültürü

Çalışmada metastatik adenokarsinom olan MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hattı kullanılmıştır. Bu hücre hattının genel özellikleri arasında Östrojen reseptörü (-), Progesteron reseptörü (-), Her2/neu (-), E-kaderin (-),

Kaspaz 2 (+), Kaspaz 3 (+)'tir ve yüksek oranda invaziv bir hücre hattıdır. Kullanılan hücre hattı İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Moleküler Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Oğuz ÖZTÜRK'ten temin edilmiştir. Epitelial hücreler, hücre kültür ortamında büyütülerek çalışmanın deneyleri için kullanılmıştır. MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı %10 ısı ile inaktive olmuş FBS, 2mM L glutamin, 100 µg/ml penisilin-streptomisin içeren RPMI 1640 besiyerinde, 37°C de ve %5 CO₂'li inkübatörde büyütülmüştür.

Hücre canlılık testi (MTT testi)

MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri RPMI-1640 besiyerinde %5 CO₂ içeren 37°C'de nemli inkübatörde büyütülmesinin ardından, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromür (MTT) testi uygulanarak betametazon valerat'ın değişik konsantrasyonlarda zamana bağlı etkilerini göstermek üzere tespit edilmiştir. 1x10⁴ hücre/kuyu 96 kuyucuklu petri kaplarına ekildikten sonra gece süresince yapışmaları beklenir. Hücreler 0-160 µM betametazon valerat ile 24 saat boyunca muamele edilmiştir. Hücreler MTT tetrazolium tuzu ile 4 saat bekletilir, bu bekleme sonucu kesilen formazan bileşiklerin canlı hücrelerin yüzeyinde birikmesi gerçekleşir. Bu nedenle örneklerin spektrofotometrik okuma sonucundan (Abs 570 nm) ilaç uygulanmamış kontrol örneklere oranlama yapılarak ilaçların hücre canlılığı üzerine etkisi belirlenmiştir.

Sağ kalım / Tripan mavisi boyama testi

Sağ kalım testi ile uygulanan ilacın belirli konsantrasyonda zamana bağlı etkisinin tespit edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı her bir kuyucukta 1x10⁵ hücre olacak şekilde 6 kuyucuklu petrilere ekimi yapıldı. Hücreler 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca MDA-MB-231 meme kanseri hücre hattı için hücrelerin yarısının öldüğü değerlerde (IC₅₀ değeri) uygulanan ilaç muamele edilmiştir. Belirlenen saatlere göre hücreler, her 24 saatte bir olacak şekilde sayımları iki tekrarı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla önce örnekler Fosfat Buffer Salin (PBS) ile yıkanıp ve tripsin ile kaldırılır. Hücreler santrifüj edilir, üzerine 50 µl 0.4 % (w/v) Tripan Mavisi ve 50 µl PBS konulur ve bu karışımdan 10 µl çekilerek Neubauer hemositometrede sayılır.

Yara iyileşmesi deneyi

Uygulanan ilacın lateral hücre göçü ve hücre hücre etkileşimlerinin belirlenmesi amacıyla yara iyileşmesi (wound healing) deneyi yapılmıştır. MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri her kuyucukta 25x10⁴ hücre olacak şekilde 6 kuyucuklu petrilere ekilmiştir. Hücrelerin yapışması sağlandıktan sonra 200 µl 'lik pipet ucuyla paralel çizgiler oluşturulmuştur. Belirlenen IC₅₀ değerinde BMV uygulanmış ve 24,48 ve 72. saatlerde hücreler invert mikroskopla incelenmiş ve görüntüler kaydedilmiştir.

Koloni oluşum testi

Uygulanan ilacın hücreler üzerindeki koloni oluşturma kabiliyetini ve anti-proliferatif özelliğini belirlemek için koloni oluşum testi yapılmıştır. 4X10³ MDA-MB-231 meme kanseri hücreleri/kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu petrilere ekilir. Hücreler IC₅₀ değerlerine göre uygulanan ilaç ile 24, 48 ve 72 saat muamele edildikten sonra ilaçsız medya ile değiştirilerek hücrelerin büyümesi incelenmiştir. 14 gün sonunda hücreler metanol asetik asit (3:1) ile 5 dakika muamele edilerek fikse edilmiştir. Hücreler %0,5'lik kristal viyole ile 20 dakika muamele edildikten sonra yıkanır ve morfolojik görüntüler trans UV ile çekilmiştir.

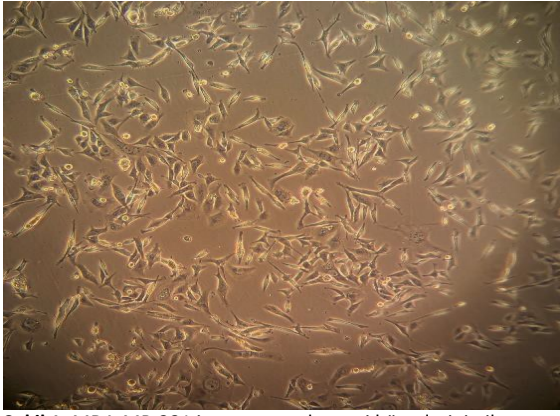
İstatistiksel analiz

Yapılan tüm değerler en az 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve Graph Pad 4.04 istatistik programı ile istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

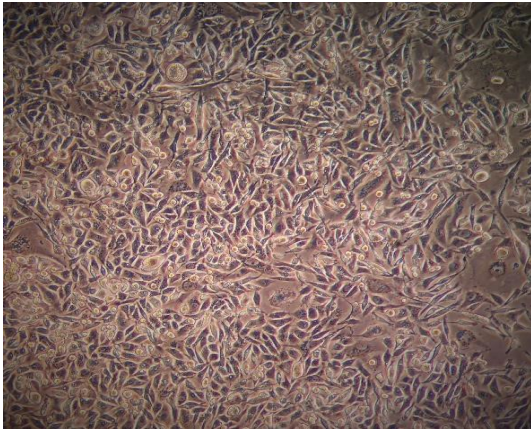
MDA-MB-231 İnsan Meme Kanseri Hücrelerine Betametazon Valerat'ın Uygulanması Sonucu Elde Edilen Mikroskopik Görüntüler

MDA-MB-231 insan meme kanseri hücre hattı kültüre edildikten sonra ilk 24 ve 48. saatlerde ilaç uygulanmış ve uygulanmamış kontrol grubuyla beraber morfolojik özellikleri Şekil 1a ve 1b'de gösterilmektedir. İlaç etkileşimi ile beraber şekil 1b'de de görüldüğü gibi hücrelerin birçoğunun öldüğü görülmektedir.



Şekil 1. MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin ilaç uygulanmadan 24 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü (a).

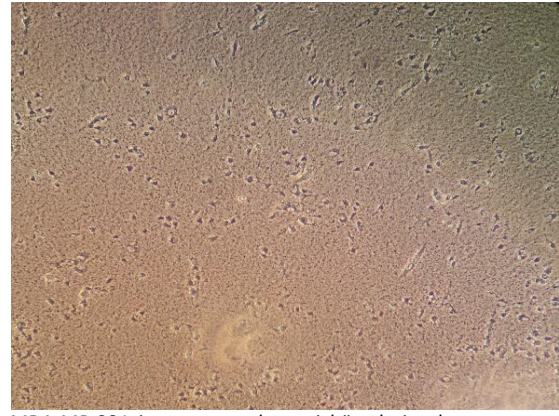
Betametazon valerat'ın uygulanmasının ardından 48. saatte kontrol grubuyla karşılaştırıldığında canlılığını kaybeden hücre sayısının zamanla orantılı olarak artış olduğu görülmektedir (Şekil 2a ve 2b).



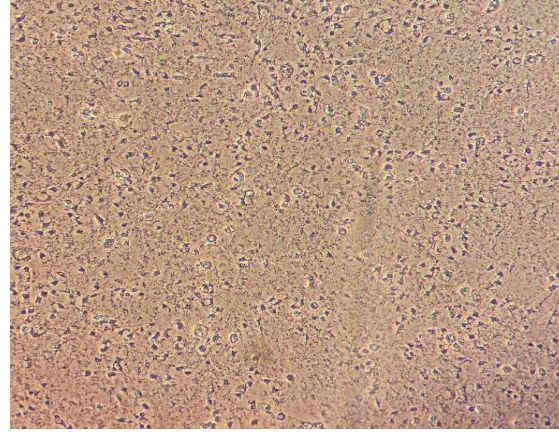
Şekil 2. MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin 48 saatlik inkübasyonu sonucu mikroskopik görüntüsü (a).

Sağkalım Deneyi Sonucunda Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinde Betametazon valerat'ın sitotoksik etkisinin değerlendirildiği MTT deney sonuçlarına göre farklı konsantrasyonlarda uygulanan ilacın IC_{50} değerine göre bağlı hücre

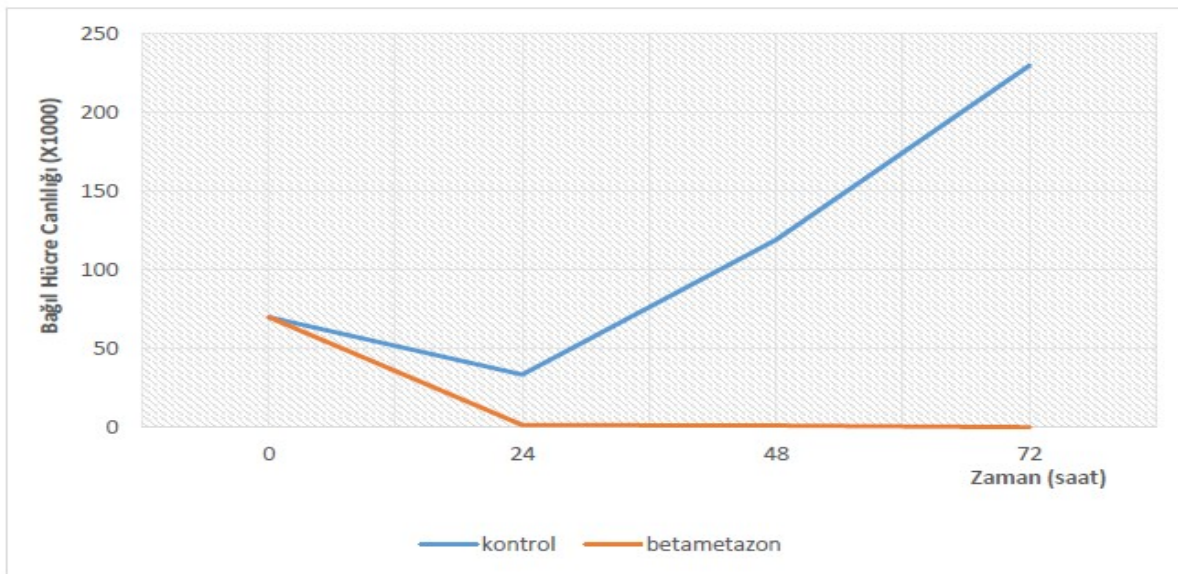


MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine betametazon valerat etken maddesi uygulanmasından 24 saat sonraki mikroskopik görüntüsü (b).

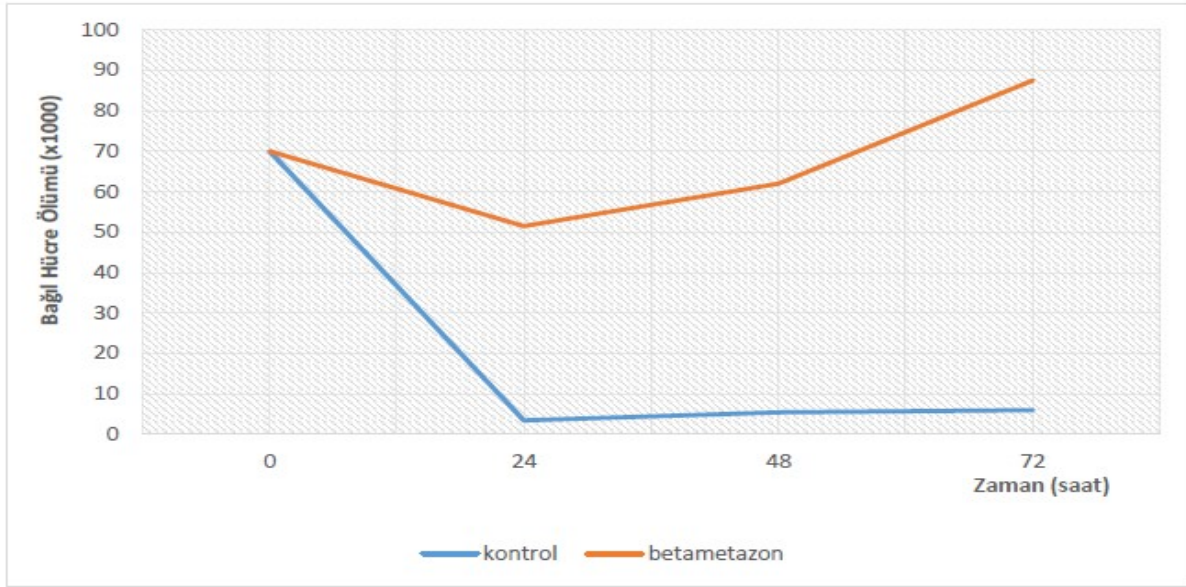


MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine betametazon valerat etken maddesi uygulanmasından 48 saat sonraki mikroskopik görüntüsü (b).

canlılığının $65 \mu M$ olduğu görülmüştür. Yapılan analizler neticesinde bağlı hücre canlılığının zamana bağlı olarak azaldığı görülmüştür (Şekil 3). Gene aynı şekilde bağlı hücre ölümünün test edildiği analiz sonucunda betametazon valeratın uygulandığı hücrelerde 24 saatten 72 saate doğru gidildikçe bağlı hücre ölümünde belirgin bir artış gözlenmektedir (Şekil 4).



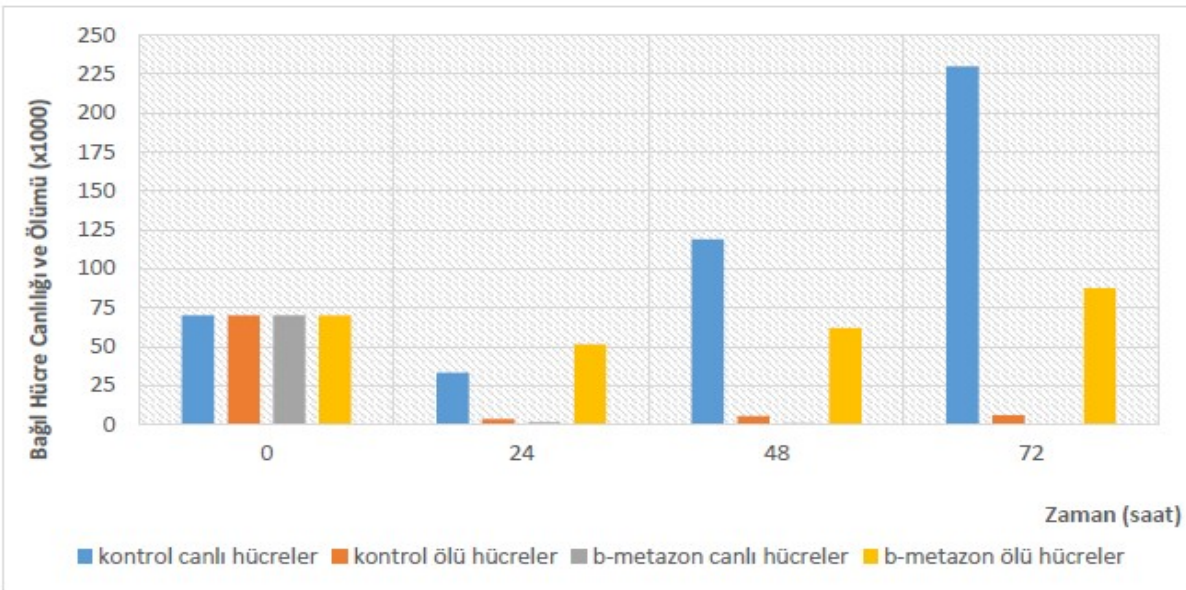
Şekil 3. MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine sağ kalım deneyi uygulanması ile 24, 48 ve 72 saat sonrasında elde edilen bağlı hücre canlılığı grafiği.



Şekil 4. MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerine sağ kalım deneyi uygulanması ile 24, 48 ve 72 saat sonrasında elde edilen bağıl hücre ölümlü grafiği.

Sağkalım deneyinde hücrelerin ekimi 70.000 hücre üzerinden gerçeleştirilmiştir. Şekil 5'te kontroldeki canlı hücre sayısında anlamlı bir artış olduğu fakat bunun aksine betametazon valerat etken maddesinin uygulanması ile de canlı hücre sayısında anlamlı bir azalış olduğu

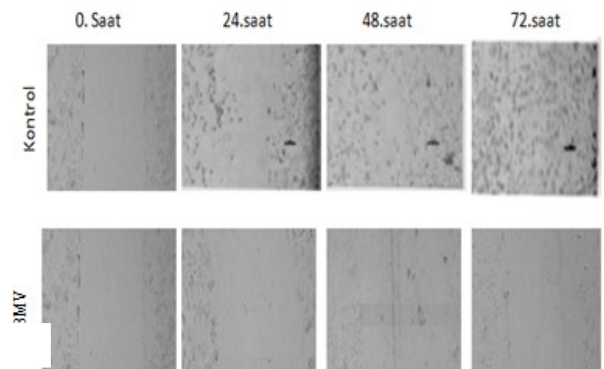
gözlemlenmektedir. Bu durum betametazon valerat'ın MDA-MB-231 insan meme kanseri hücreleri için güçlü toksik bir etken olduğunu düşündürmektedir.



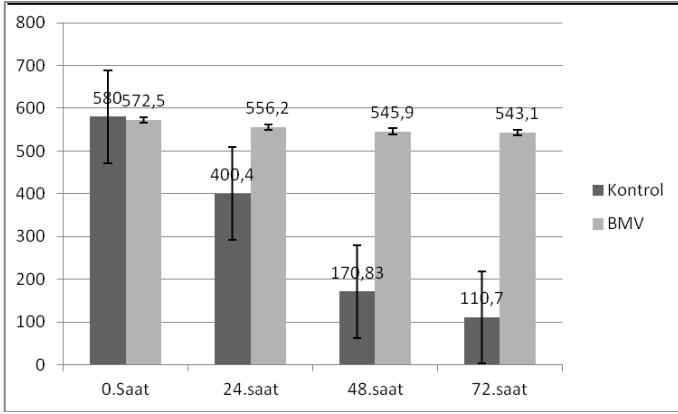
Şekil 5. Hiçbir uygulama yapılmamış olan kontrol ve betametazon uygulanmış MDA-MB-231 insan meme kanseri hücrelerinin bağıl hücre canlılığı ve ölümlünün 24, 48 ve 72 saat sonra incelenmesiyle elde edilen veriler.

Betametazon valerat'ın MDA-MB-231 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattında Migrasyona etkisi

Yara iyileşmesi deneyinde yara kapanması 24 saatlik aralıklarla incelenmiş ve ölçüm sonuçları kaydedilmiştir. Kontrol grubunda 0. Saatte 580 μ m olan yara genişliğinin 72.saat sonunda 110,7 μ m ye düştüğu gözlenmiştir. BMV uygulanan hücrelerde 0. saatte ise 572,5 μ m olan yara genişliğinin 543,1 μ m 'e düştüğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda hücelere BMV uygulanmasıyla hücre proliferasyonu azaldığı ve yara iyileşmesi engellendiği gözlenmektedir. (Şekil 6 ve 7)



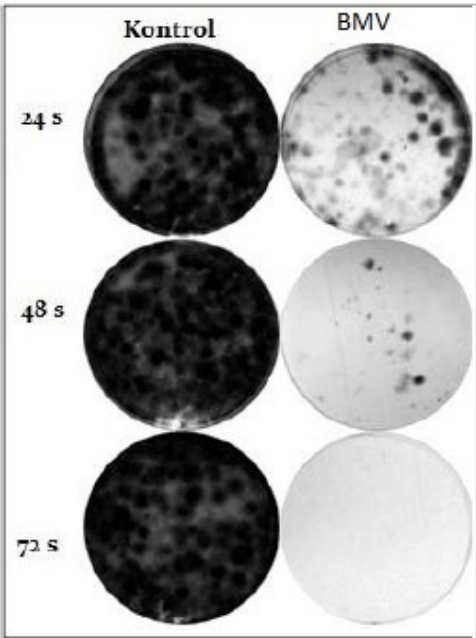
Şekil 6. Betametazon valerat'ın hücre göçü üzerine etkisi (4x)



Şekil 7. Kontrol hücre grubu ve BMV uygulanmış hücre grubunun yara genişliği ölçümleri (µm: mikrometre)

Betametazon valerat'ın MDA-MB-231 İnsan Meme Kanseri Hücre Hattında Anti-proliferatif Etkisi

65 µM Betametazon valerat uygulanan hücreler, ilaç uygulanmamış kontrol gruplarıyla karşılaştırıldıklarında, zamana bağlı olarak hücre proliferasyonunda azalma görülmüştür (Şekil 8).



Şekil 8. MDA-MB-231 meme kanseri hücrelerinin kontrol grubu ve 65 µM BMV ile muamelesi sonrası koloni oluşum testi ile ilacın anti-proliferatif etkisinin görüntüsü.

TARTIŞMA

Yapılan bu çalışma bir glukokortikoid olan betametazon valeratın üç'lü negatif meme kanseri hücre hattı MDA-MB-231'de etkisinin incelenmesini amaçlamıştır. Buna amaçla hücre büyümesi ve hücre proliferasyonu üzerindeki etkiler sağ kalım ve koloni oluşum analizleriyle gösterilmeye çalışılmıştır.

Hormonal faktörler hedef dokularda bazen baskılayıcı çoğu zaman da uyarıcı özellik gösterirler. Normal dokuların bu özelliği neoplastik süreçlere de yansır ve kanser tedavisinde etkin bir yaklaşım olan hormonal tedavinin kullanılmasının rasyonelini oluşturur. Buna göre erken evre meme kanserinin tedavisinde kemoterapi ve endokrin tedavi uygulaması meme kanserine bağlı ölüm oranlarında anlamlı düzeyde azalma sağlamaktadır. Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG) (10) tarafından 2005 yılında yayınlanan meta-analiz sonuçlarına göre 6 aylık antrasiklin temelli polikemoterapi uygulaması nod durumu, östrojen reseptör (ER) durumu, tamoksifen kullanımı ve diğer tümör özelliklerinden bağımsız olarak meme kanserine bağlı ölüm oranında 50 yaş altı grupta yıllık %38, 50-69 yaş grubunda da yıllık %20 oranında azalma sağlamaktadır (11).

Glukokortikoid hormonlar özellikle lenfoid dokularda proliferasyonu inhibe ederler. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda glukokortikoidler, akut lenfoblastik lösemiler, Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomalar ve multipl myelomada tedavi amaçla kullanılmıştır (12-15). Özellikle radyoterapi sırasında ve tanı anında tümörün yarattığı ödemin giderilmesinde ve antineoplastik ilaçların meydana getirdiği alerjik-anafilaktik reaksiyonların giderilmesinde kullanılmaktadır. Bu gruptaki ilaçlar içerisinde en çok kullanılan prednizondur. Kortikosteroidlerin tümör tedavisinde yüksek dozda kullanılmaları onların yan etkilerinin de fazla olmasına yol açabilmektedir.

Bu çalışma ile literatürde ilk defa betametazon valeratın düşük dozlarda bile meme kanseri hücrelerine olan etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar ile zamana bağlı hücre canlılığı üzerine olan etkileri ile kanser hücrelerinde önemli derecede azalma sağladığı görülmüştür.

Betametazon 36-54 saatlik yarı ömrü ve uzun etki süresi ile endotel hücrelerinin, makrofaj, eozinofil, T lenfosit ve mast hücrelerinin sitokin üretimini inhibe ederek güçlü antiinflamatuvar etki gösterdiği bilinmektedir (16). Ayrıca insanlarda betametazonun maternal dolaşımdaki kabul edilen yarı ömrünün yaklaşık olarak 6 saat olduğu, fetal dolaşımdaki yarı ömrünün ise 12 saat civarında olduğu ifade edilmektedir (17).

SONUÇ

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlara bakıldığında betametazon valerat etken maddesinin MDA-MB-231 insan meme kanseri hücreleri için güçlü bir sitotoksik etki oluşturduğunu göstermektedir. Yapılacak olan kombine tedaviler ile meme kanserinde kullanılacak hormon tedavisinde kortikosteroidlerin yüksek doz kullanılmasının en aza indirgenmesi mümkün olabilecektir.

Çıkar Çatışması

Yazar herhangi bir çıkar çatışması bildirmemiştir.

KAYNAKLAR

- Schüler-Toprak S, Trecek O, Ortmann O. Human chorionic gonadotropin and breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18:1587.
- Karanlık H, Özmen V, Asoğlu O, ve arkadaşları. Meme kanseri cerrahi tedavisinin uzun dönem sonuçları. *İstanbul, Meme Sağlığı Dergisi*. 2006;2:89-95.
- De Laurentiis M, Cianniello D, Caputo R, Stanzione B, Arpino G, Cinieri S, Lorusso V, De Placido S. Treatment of triple negative breast cancer (TNBC): current options and future perspectives. *Cancer Treat Rev*. 2010;36:80-6.
- Muss HB, Berry DA, Cirincione CT, Theodoulou M, Mauer AM, Kornblith AB, Partridge AH, Dressler LG, Cohen HJ, Becker HP, Kartcheske PA, Wheeler JD, Perez EA, Wolff AC, Gralow JR, Burstein HJ, Mahmood AA, Magrinat G, Parker BA, Hart RD, Grenier D, Norton L, Hudis CA, Winer EP, CALGB Investigators. Adjuvant chemotherapy in older women with early-stage breast cancer. *N. Engl. J. Med*. 2009;360:2055-65.
- Ünal O, Kars B. Postmenopozal hormon tedavisi (ht) ve kanser riski. *İstanbul. TJOD Uzmanlık Sonrası Eğitim ve Güncel Gelişmeler*. 2004;1:51-7.
- Bostankolu Ö, Öztürk B, Coşkun U, ve diğerleri. Yaşlı hastalarda kanser kemoterapisi. *Uluslararası hematoloji-onkoloji dergisi*. 2008;3:186-92.
- Çayırıcı MT. Memenin invaziv duktal karsinomlarında siklin d1 ve p21 waf1'in prognostik faktörler ve tamoksifen direnci ile ilişkisi. *Uzmanlık Tezi, İstanbul*. 2007;31
- Çelik S. Tamoksifen kullanan meme kanserli olguların endometrium patolojileri açısından değerlendirilmesinde transvajinal ultrasonografi ve endometrial biyopsinin yeri. *Uzmanlık Tezi, İstanbul*. 2007;15-21
- Tüzün Y. Dermatolojide yerel kortikosteroidler. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Cilt Hastalıkları ve Yara Bakımı Sempozyumu, 18-19 Ekim 2001, İstanbul, s. 23-31*.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. 2005;365:1687-717.
- Öztop İ. Erken evre meme kanserinin adjuvan tedavisinde trastuzumab. *Uluslararası hematoloji-onkoloji dergisi*, 2007;3:184-92.
- Lamar ZS. The Role of Glucocorticoids in the Treatment of Non-Hodgkin Lymphoma. *Ann Hematol Oncol*. 2016;3:1103.
- Sánchez-Vega B, Krett N, Rosen ST, Gandhi V. Glucocorticoid receptor transcriptional isoforms and resistance in multiple myeloma cells. *Mol Cancer Ther*. 2006;5:3062-70
- Mercer PM, Ebbs SR, Fraser SC, et al. Trial of aminoglutethimide vs hydrocortisone as second-line hormone treatment of advanced breast cancer. *Eur J Surg Oncol*. 1993;19:254-8.
- Inaba H, & Pui CH. Glucocorticoid use in acute lymphoblastic leukemia: comparison of prednisone and dexamethasone. *The Lancet Oncology*, 2010;11:1096-106.
- Çalışkan E, Çakıroğlu Y, Doğer E, ve diğerleri. Yüksek doz betametazon uygulamasının HELLP sendromu üzerine etkileri. *Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kocaeli Ankara Etik Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara, Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 2010;30:1134-42.
- Antalyalı M, Sezik M. Antenatal kortikosteroid uygulamalarındaki güncel gelişmeler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Isparta. S.D.Ü. Tıp Fak. Derg*. 2011;18:144-9.