



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**Yüksek Lisans Tezi**

**OKSİDATİF STRESE BAĞLI KROMOZOM HASARLARININ  
OLUŞUMUNDA NÖROTRANSMİTTERLERİN KORUYUCU  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Gözde KILIÇ**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Genel Biyoloji Programı**

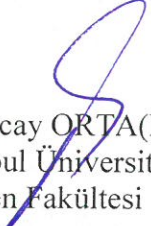
**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Tuncay ORTA**

**Ağustos, 2019**

**İSTANBUL**

Bu çalışma, 19.08.2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Genel Biyoloji Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

### Tez Jürisi

  
Prof. Dr. Tuncay ORTA(Danışman)  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

  
Prof. Dr. Önder KILIÇ  
İstanbul Üniversitesi  
Fen Fakültesi

  
Dr. Öğr. Üyesi Narin ABDULLAH  
İstanbul Aydın Üniversitesi  
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu



20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi’nin aboneli olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü’nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 26312 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 26312 numaralı BAP projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübesi ile yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Tuncay ORTA'ya sonsuz minnet ve teşekkürü borç bilirim.

Araştırma ve çalışmalarına yardım eden, her anda yanımda olan laboratuvar arkadaşlarım, Dr. Öğr. Üyesi Narin ABDULLAH'a, Merve Civelek'e Leyla Akpunar'a, İsa Doğan ve Medine Toy'a teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca ayrı kaldığım öğrencilerim Gizem, Derya, Zeynep, Elif ve Reyhan'a her zaman manevi mutluluklarımı hissettiğim için teşekkür ederim.

Çalışma hayatım boyunca her konuda yanımda olan ve her zaman manevi desteğini yanımda hissettiğim Prof. Dr. Sevgi Kalayoğlu Beşışık'a sonsuz teşekkürlerimi iletiyorum.

Eğitimim boyunca bana her koşulda inanan güvenen aileme ve en çok çocukluğumdan beri emeği bende en fazla olan değerli Anneannem'e sonsuz teşekkür ederim.

Ağustos 2019

Gözde KILIÇ

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ .....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ .....	vii
TABLO LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ .....	ix
ÖZET .....	x
SUMMARY .....	xii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL KISIMLAR.....</b>	<b>4</b>
2.1.    KANSER.....	4
2.2.    OKSİDATİF STRES .....	4
2.2.1.    Serbest Radikaller.....	6
2.2.1.1.    Süperoksit Radikali ( $O_2 \cdot^-$ ) .....	7
2.2.1.2.    Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ).....	7
2.2.1.3.    Hidroksil Radikali ( $\cdot OH$ ) .....	8
2.3.    NÖROTRANSMİTTER .....	8
2.3.1.    Adrenalin .....	9
2.3.2.    Nöradrenalin .....	10
2.3.3.    Dopamin .....	10
2.3.4.    Serotonin.....	11
2.3.5.    Gaba (Gama aminobutirik asit) .....	13
2.3.6.    Asetilkolin .....	13
2.3.7.    Glutamat .....	14
2.3.8.    Endorfin .....	15
2.3.9.    Melatonin.....	16
2.4.    MİKRONÜKLEUS TEKNİĞİ .....	18
<b>3. MALZEME VE YÖNTEM.....</b>	<b>21</b>
3.1.    DENEY MATERYALLERİ.....	21
3.1.1.    Dopamin .....	21
3.1.2.    Serotonin.....	21

3.1.3. Melatonin.....	21
3.2. HÜCRE KÜLTÜRÜ .....	21
3.3. MN TESTİ .....	22
3.4. PREPARATLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	24
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....	25
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>26</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>36</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>41</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>48</b>



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa No

Şekil 2.1: Reuter S., ve diğ., (2010) Normal hücrelerin kanser hücrelerine karşı reaktif oksijen türlerine duyarlılığının modeli. Normal hücreler, antioksidan tarafından yeterince korunmazlarsa ROS'a aşırı duyarlıdır. [10] .....	5
Şekil 2.2: Dopaminerjik sinir terminallerinde L-DOPA'dan dopamin sentezi. ....	11
Şekil 2.3: Melatonin. ....	16
Şekil 2.4: Melatoninin yapısı.....	17
Şekil 2.5: Sitokinez-bloklanmış bir lenfosit hücresinin fotomikrografisi. ....	20
Şekil 3.1: İnkübasyon için bekletilen flasklar. ....	23
Şekil 3.2: CO <sub>2</sub> İnkübasyon için bekletilen flasklar .....	24
Şekil 4.1: Dopamin uygulanan hücrelerin MN/BN verisi.....	27
Şekil 4.2: Dopamin+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulanan hücrelerin Pİ verisi. ....	28
Şekil 4.3: Serotonin uygulanan hücrelerin MN/BN verisi. ....	30
Şekil 4.4: Serotonin+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulanan hücrelerin MN/BN verisi .....	31
Şekil 4.5: Melatonin uygulanan hücrelerin MN/BN verisi. ....	32
Şekil 4.6: Melatonin uygulanan hücrelerin Pİ verisi.....	33
Şekil 4.7: Dopamin+Serotonin+Melatonin uygulanan hücrelerin MN/BN verisi. ....	34
Şekil 4.8: Dopamin+Serotonin+Melatonin+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulanan hücrelerin MN/BN verisi .....	35

## TABLO LİSTESİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 4.1:</b> Dopamin 1. Set doz-cevap tablosu.....	26
<b>Tablo 4.2:</b> Dopamin 2. Set doz-cevap tablosu.....	27
<b>Tablo 4.3:</b> Serotonin 1. Set doz-cevap tablosu. ....	29
<b>Tablo 4.4:</b> Serotonin 2. Set doz-cevap tablosu. ....	29
<b>Tablo 4.5:</b> Melatonin 1. Set doz-cevap tablosu. ....	31
<b>Tablo 4.6:</b> Melatonin 2. Set doz-cevap tablosu. ....	31
<b>Tablo 4.7:</b> Dopamin+Serotonin+Melatonin 1. Set doz-cevap tablosu. ....	33
<b>Tablo 4.8:</b> Dopamin+Serotonin+Melatonin 2. Set doz-cevap tablosu. ....	33



## SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
$\mu\text{M}$	: Mikromolar
ml	: Mililitre
M	: Molar
$\text{H}_2\text{O}_2$	: Hidrojen peroksit
$\text{OH}\cdot$	: Hidroksil radikali
$\text{O}_2^{\cdot -}$	: Süperoksit Radikali

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
BN	: Binükleat
MN	: Mikronukleus
PI	: Proliferatif indeks
Sit-B	: Sitokalsin B
SOD	: Süperoksit Dismütaz
RNS	: Reaktif nitrojen türleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
ROT	: Serbest oksijen türevleri
SODc	: Süperoksit Distümaz
MDA	: Malondialdehid
GSH	: Glutasyon-S-Transferaz

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### OKSİDATİF STRESE BAĞLI KROMOZOM HASARLARININ OLUŞUMUNDA NÖROTRANSMİTTERLERİN KORUYUCU ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Gözde KILIÇ

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Tuncay ORTA

Kanser dünyada en çok ölümlere sebep olan hastalıklar arasında 2. sırada yer almaktadır. Farklı kanser tiplerinin tedavileri arasında kemoterapi, radyoterapi ve biyolojik ajanlar kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra yan etkisinin daha az olduğu düşünülen antioksidanların, kanserden korunmak için ve hastalık riskini azaltma da iyi bir ajan olarak kullanılabilirler düşünülmektedir. Vücutta normal metabolizmik aktiviteler sırasında meydana gelebilen oksidan maddeler kanser oluşumu gibi birçok hastalığa sebep olmaktadır. Hücre fonksiyonlarına ket vuran reaktif oksijen türevlerinin kontrol altına alınması diyet yoluyla alınan antioksidan maddelerle mümkün olabilmektedir.

Reaktif türlerin kanser ve diğer birçok hastalığın nedeni olduğu bilinmektedir. Nörotransmitterlerin koruyucu etkilerinin araştırılması hedeflenen bu çalışmada, Dopaminin kanser gelişimi üzerindeki etkisini tam olarak bilinmemesi dopaminin kullanılmasını öncelikli kılmıştır.

Vücutta diyet yoluyla alınan, aynı zamanda esansiyel aminoasit triptofandan üretilen serotonin çalışmalarına bakıldığında tümörün patolojik açıdan değerlendirilmesi ile ilgili çalışmalar yapıldığı görülmüştür. Serotoninin kanser üzerindeki etkisinin *in vitro* test çalışmalarında yeterli sayıda olmaması nedeniyle çalışmada öncelikli kılmıştır.

Melatonin; vücutta doğal yolla üretilen biyolojik saati düzenleyen, antioksidan etkiye sahip nörotransmitter olarak bilinmektedir. Melatonin doğrudan serbest radikallere etki ederek

antioksidan enzimlerini uyararak oksidatif hasarı inhibe etmektedir. Diğer nörotransmitterler gibi etkisini taşıyıcı reseptörler ile gerçekleştirmektedir. Taşıyıcı reseptörler olan MT1 ve MT2 apoptozu uyararak sağkalım oranını arttırmaktadır. Vücutta doğal yolla sentezlenen bu nörotransmitter gelecekte birçok kanser türü için hastaların kemoterapi gibi güçlü yan etkiye sahip ajanların yan etkilerinin azaltılmasına yardımcı olarak kombinasyon tedavi yöntemlerinde kullanılmasını sağlanabilir.

Tez çalışmasında insan kökenli TK6 lenfoblast hücreleri kullanılmıştır ve hücrelerde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile stres koşulları oluşturulmuştur. *In vitro* koşullarda TK6 hücrelerine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanarak oksidatif stresin kromozom hasarları üzerinde etkisi dopamin, serotonin, melatonin ve hepsinin kombinasyonu ile farklı dozlarda uygulanmıştır. Genotoksik etkiler mikronukleus tekniği uygulanarak araştırılmıştır. Stres koşullarında oluşan mikronukleus yapıları, doz cevap eğrileri yönünden karşılaştırılmıştır.

Dopamin test grubunda, hem farklı dozlar halinde uygulanan Dopamin tedavisi hem de hidrojen peroksit verilen grupta MN/BN oranının verilen dozlarla yükselme eğiliminde olduğu gözlemlenmiş 2 eğrinin karşılaştırılmasında oldukça anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır (P<0,01). MN testi sonucunda genotoksik etkisi olduğu gözlenmiştir. Dopaminin kontrol grubu ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozlarının uygulanması ile hesaplanan Pİ değerleri için yapılan F testi ile karşılaştırılmasında P<0,05 olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir. Artan dopamin konsantrasyonlarının hücreyi nekroz ve apoptozu sürükleyebileceği nedeniyle Pİ düşme eğilimi göstermiştir.

Serotonin grubunda, hem farklı dozlar halinde uygulanan serotonin tedavisi hem de hidrojen peroksit verilen grupta MN/BN oranının verilen dozlarla yükselme eğiliminde olduğu gözlenirken 100 µM dozdan sonra düşüş gözlenmiştir. F testi 2 eğrinin karşılaştırılmasında elde edilen p=0,2111 olarak hesaplanmış ve istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. Serotonin grubunda serotonin dozları ve serotonin dozları+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verilerinin Pİ karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p<0,05). Bu sonuç serotoninin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında koruyucu etkisi olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Melatonin verilen grupta farklı dozlar uygulandığında aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0,55)

Dopamin+Serotonin+Melatonin dozları ve kombinasyon+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun F testi ile ölçümü yapılmıştır. Korelasyon ( $r^2=0,1201$ ) hesaplanmış ve p<0,5944 değeri istatistiksel olarak pek de anlamlı bulunmamıştır. Dopamin+Serotonin+Melatonin dozlarının ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Kombinasyon dozlarının Pİ değerleri için yapılan F testi ile karşılaştırılmasında aralarındaki korelasyon katsayısı ( $r^2=0,01$ ) ve P<0,1866 olarak hesaplanmıştır. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir.

Ağustos 2019, 61 sayfa.

**Anahtar kelimeler:** mikronukleus teknik, dopamin, serotonin, melatonin, oksidatif stres

## **SUMMARY**

### **M.Sc. THESIS**

#### **INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF NEUROTRANSMITTERS IN THE FORMATION OF OXIDATIVE STRESS INDUCED CHROMOSOMAL DAMAGE**

**Gözde KILIÇ**

**İstanbul University**

**Institute of Graduate Studies in Sciences**

**Department of Biology**

**Supervisor : Prof. Dr. Tuncay ORTA**

Cancer is the second most common cause of death in the World. Chemotherapy, radiotherapy and some biological agents are used in the treatment of different types of cancers. In addition, antioxidants, which are considered to have less side effects, may use as a good agent to prevent cancer and reduce the risk of several diseases. Oxidants that can occur during normal metabolic activities in the body and it can cause many diseases such as cancer. It is possible to control these reactive oxygen species, which can damage cell functions, with antioxidant substances taken by healthy diet.

Reactive species are known to be the cause of cancer and many other diseases. This study aimed to investigate the effects of neurotransmitters. The fact that the effect of dopamine on cancer development is not fully understood has made the use of dopamine a priority.

When considering at the serotonin studies taken from the through body diet and also produced from essential amino acid tryptophan, it was seen that there were studies about the pathological evaluation of the tumor. The effect of serotonin on cancer has not been sufficient in *in vitro* test studies, thus making it a priority in the study.

Melatonin is known as an antioxidant neurotransmitter that regulates the naturally occurring biological clock in the body. Melatonin directly inhibits oxidative enzymes by acting on free

radicals and stimulating antioxidant enzymes. It performs with carrier receptors like other neurotransmitter. The carrier receptors MT1 and MT2 increase the survival rate by stimulating apoptosis. Naturally synthesized in the body, these neurotransmitters can be used as a combination therapy for many types of cancer in the future by reducing the adverse-event profile of agents with strong adverse events, such as chemotherapy.

In this study, stress conditions were created by using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on TK6 lymphoblast cells which is human origin cell line. The effects of oxidative stress on chromosomal damage by applying H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on TK6 cells in vitro conditions were also treated with different doses of dopamine, serotonin, melatonin and combination of these. Genotoxic effects were investigated by using micronucleus technique. Micronucleus/binucleated cells ratio and created dose response curves were compared to each other.

In the dopamine test group, it was observed that the MN / BN ratio tended to increase with the doses in both the Dopamine treatment with different doses and in the hydrogen peroxide treated group. MN test showed genotoxic effects. P value was calculated as 0.0021 in comparison with F test for PI values calculated by application of dopamine control group and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> doses. It was considered clinically significant. It was observed that the toxic effect of dopamine increased due to the increase in dose in vitro, but the frequency of MN decreased at 100 micromolar concentration. It was observed that the toxic effect of dopamine increased due to the increase in dose in vitro, but the frequency of MN decreased at 100 micromolar concentration of dopamine. Accordingly, a high concentration of dopamine dose may lead to apoptosis or necrosis.

In the serotonin group, it was observed that the MN / BN ratio tended to increase with the given doses both in the serotonin treatment administered in different doses and in the hydrogen peroxide treatment group, but a decrease was observed after the 100 µM dose. The F test was calculated as 0,1855 by comparing the 2 curves and was not considered clinically significant. Serotonin doses and serotonin doses in the serotonin group were found to be statistically significant difference in the comparison of Pi (p<0,0436) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> data.

In the melatonin-treated and hydrogen peroxide group, the MN / BN ratio obtained by F test was calculated as P <0.5083 and this finding was not clinically significant. In the comparison of melatonin doses and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Melatonin doses with F test for Pi values, the correlation coefficient (r<sub>2</sub> = 0.007) and P value were calculated as 0.6952. Clinically it not considered significant.

Dopamine Serotonin Melatonin doses and combination H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration were measured by F test. Correlation (r<sub>2</sub> = 0.1201) was calculated and p <0.0732 was not clinically significant. The correlation coefficient (r<sub>2</sub> = 0.01) and P <0.6410 of the dopamine serotonin melatonin doses and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> combination doses were compared with the F test for Pi values. This finding was not considered clinically significant.

August 2019, 61 pages.

**Keywords:** micronucleus test, Dopamin, Serotonin, Melatonin , oxidative stres

## 1. GİRİŞ

Kanser tüm dünyada en yüksek morbidite ve mortaliteye sahip hastalıklar arasında 2. sırada yer almaktadır. Hastalık etiyojisi ve progresyonu çok faktörlüdür ve çeşitli risk faktörlerinin etkileri hücrelerde oksidatif stres durumunun modülasyonu yoluyla ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres, hücrelerdeki reaktif türler ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik nedeniyle oluştuğu bilinmektedir. [1]

Dokularda meydana gelen reaktif oksijen türevleri DNA, lipid, karbonhidrat ve protein gibi yapılara zarar vermektedir. İnsan vücudu açısından önemli ölçü de tehlike oluşturan bu durumun antioksidanlar aracılığıyla korunabileceği düşünülmektedir. İnsan vücudunda doğal yolla üretilen glutatyon, katalaz, vitaminler ya da dışarıdan diyet yoluyla aldığımız birçok antioksidanın koruyucu etkilerinin araştırılması ile ilgili çalışmalar ilgi çekici olabilmektedir.

Bir insan hücresi bir günde yaklaşık  $1,5 \times 10^5$  kere hidroksil radikali ve diğer reaktif türlerden kaynaklanan oksidatif atığa maruz kalmaktadır. [2]

Pek çok kanserli dokuda serbest radikal aracılı DNA hasarı gözlemlenmiştir. ROT'ların indüklediği DNA hasarlarının arasında tek veya çift iplikçik kırılmaları, pürin, pirimidin veya deoksiriboz modifikasyonları ve DNA protein çapraz bağlanmaları sayılabilir. DNA hasarı, transkripsiyonun indüklenmesine veya durmasına, sinyal iletim yollarının indüksiyonuna, replikasyon hatalarına ve genomik kararsızlığa neden olabilmektedir. Bu durumların hepsi kanserle ilişkilidir. [3]

Dopamin seviyelerinde değişiklikler, birçok insan patolojik durumunda tedavi şekillerinde ve farmakolojik olarak rol oynamaktadır. Parkinson hastalığına sahip olan insanların *suffia nigra*'sındaki nöronların oksidatif strese maruz kaldıklarını bu durumun dejenerasyonunun hızlandırılabileceğini göstermektedir.

Dopamin azlığına bağlı olarak meydana gelen Parkinson hastalığının tedavisinde dopamin ajanı kullanıldığı bilinmektedir. Dopamin molekülünün antioksidan özelliğe sahip oluşu günümüzde reaktif oksijen türlerinin meydana getirdiği kanser oluşumu üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar için merak konusu olmuştur.

Bilişsel bozukların kökeninde serbest radikallerin etkisinin olduğu bilinmektedir. Bilişsel bozulma ile lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehid (MDA) serbest radikaller ve oksidatif savunma düzenekleri arasındaki ilişkiyi inceleyen Herken H., ve ark. ağır bilişsel bozukluğu olan yaşlılarda SODc (Superoksit dismutaz) ve GHS düzeylerindeki önemli düşüklük ve MDA seviyelerinde de önemli artış tespit edilmiş olması , serbest radikal ve antioksidan savunma sisteminin yaşlılıktaki değişik patolojik bozukluklarla ilişkili olabileceği ve özellikle nörolojik-psikotik bozuklukların ortaya çıkmasında anahtar rol oynayabileceği kanaatine varıldı. Yaşlılığa bağlı olarak vücutta azalan antioksidan maddelerin önemi anlaşılmıştır. [4]

Serotonin ajanının kanser tümör patoloji çalışmaların da konsantrasyon miktarının artmasına bağlı olarak toksik etki gözleendiği ancak düşük konsantrasyonlarda koruyucu etkisinin olduğu görülmüştür.

Serbest radikallerin Parkinson hastalığı ve birçok hastalığa sebep olduğu düşünülduğünde Serotonin gibi antioksidan molekülün bu çalışmada kullanılmasını önemli kılmıştır.

Melatonin vücutta doğal yolla üretilen bir antioksidan maddedir. Melatoninin kanser üzerinde etkisiyle ilgili çalışmalar meme kanseri üzerine etkisiyle ilgili araştırılmıştır. Mevcut çalışmalar melatoninin gece uygulamalarının kanserde daha başarılı sonuçlar verdiğini ortaya koymuştur.

Melatoninin -tümör hücresi aktivitesi konusunda önemli bir kriter olarak görülen- telomeraz aktivitesini in vivo ve in vitro koşullarda azalttığı da gösterilmiştir Melatoninin kanser tedavisinde uygulanan radyoterapi ve kemoterapik tedavi yanıtında yan etkiyi azalttığını ortaya koymuştur.

Melatoninin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda birçok kanser türü (örneğin; meme kanseri, prostat kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri, uterus kanseri, over kanseri, hipofiz tümörü, melanomalar, lösemi) üzerine iyileştirici etkinliğini gösteren araştırmalar iteratürde mevcuttur.

Melatonin birçok kanser türünde koruyucu etkisinin gözlenmesi bu çalışmada melatonin nörotransmitterinin kullanılmasını önemli kılmıştır.

Ancak günümüzde nörotransmitterlerin kanser üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığı hala merak konusudur. Bu çalışma da insan kökenli TK6 lenfoblast hücresi kullanılmış, oksidatif

strese maruz bırakılan hücrelerde nörotransmitterlerin koruyucu etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Elde edilen sonuçlar düşünüldüğünde ileryen yıllarda nörotransmitterlerin kanser hücreleri üzerindeki koruyucu etkisiyle birçok çalışma yapılabilir.





## 2. GENEL KISIMLAR

### 2.1. KANSER

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde bölünmesi olarak tanımlanabilir. Bu durum, tümörlere, bağışıklık sistemine zarar verilmesine hatta ölümcül olabilecek diğer bozulmalara neden olabilir. Amerika Birleşik Devletleri'nde, Amerikan Kanser Derneği'nden gelen 2018 tarihli bir rapora göre, 1 Ocak 2016'dan başlayarak kanser öyküsü olan 15,5 milyon insan bulunmaktadır.[5] Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı'na (IARC) göre ise dünya çapında 10 milyondan fazla ölümcül kanser vakası görülmüştür [6].

Yüksek düzeyde çevre kirliliğine maruz kalmanın kanserojen riskinin artmasıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. [7]

Kanser araştırmalarında mutajenik veya kanserojen faktörleri saptamak, tanı ve tedaviyi geliştirmek, kanser hücrelerinin fonksiyonlarını ve metastaz karakterlerini incelemek için birçok *in vitro* test sistemi kullanılmaktadır. [8]

*In vitro* insan hücre dizisi modelleri, klinik yanıtı tahmin etmek, daha ileri testler için hipotez oluşturmaya yardımcı olmak ve ilaç yanıtındaki varyasyon ile ilişkili yeni mekanizmaları tanımlamak amacıyla kanser farmakogenomik çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. [9]

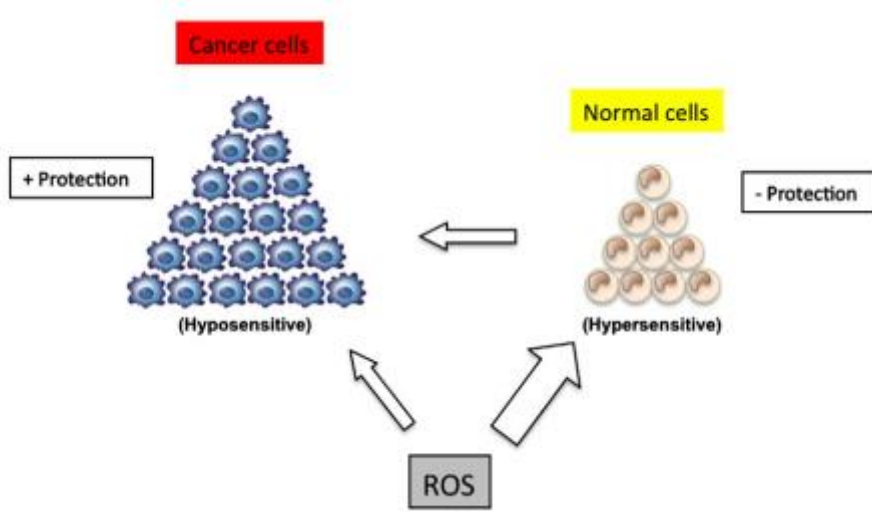
### 2.2. OKSİDATİF STRES

Son yıllarda yapılan çalışmalar, birçok hastalığın patogeneğinde, artmış serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonun rol aldığını göstermektedir.

Oksidatif stresin Tip 2 diyabet, miyokard enfarktüsü gibi kardiyolojik hastalıklar, bazı nörolojik rahatsızlıklar, astım, romatoid artrit gibi romatolojik hastalıklar ve kanser dahil birçok hastalığın sebebi olduğu düşünülmektedir. Bunlarla birlikte oksidatif stresin yaşlanma mekanizmalarında da etkin olduğuna dair araştırmalar vardır. [10,11,12,13,14,15,16]

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri, serbest radikaller ve reaktif metabolitlerin artışı ve antioksidanlar olarak adlandırılan koruyucu mekanizmaların ortadan kaldırılması ve oksidan-antioksidan dengesinin bozulması olarak tanımlanır. Bu dengesizlik hücre ve dokularda hasara

yol açabilir. [17] Şekil 2.1'de görüldüğü üzere normal hücreler, antioksidan tarafından yeterince korunmazlarsa ROS'a aşırı duyarlıdır. [18]



**Şekil 2.1: Reuter S., ve diğ., (2010) Normal hücrelerin kanser hücrelerine karşı reaktif oksijen türlerine duyarlılığının modeli. Normal hücreler, antioksidan tarafından yeterince korunmazlarsa ROS'a aşırı duyarlıdır. [18]**

Oksidatif stres kanserogenezden tümör oluşumuna, tedaviden korunmaya kadar kanserin tüm yönleriyle yakından ilgilidir. İnsan vücudu sürekli olarak eksojen kökenli (örneğin ultraviyole ışınları) ve endojen kökenli (mitokondrinin bulunduğu hücresel düzeyde) oksidatif stres tehdidi altındadır [19].

Reaktif oksijen türleri (ROS) normal bir hücre metabolizmasının ürünleridir ve bitkilerde sinyal yollarının uyarılmasında hayati rol oynarlar. Hayvan hücrelerinde, hücre içi ve hücre dışındaki yanıt, çevresel değişikliklere bağlıdır [20]. Çoğu ROS hücrelerde mitokondriyal solunum zinciri tarafından üretilir [21].

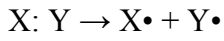
Genel olarak reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif azot türleri (RNS) olarak bilinen oksijensiz radikallerin hücreler için zararlı olduğu bilinmektedir. ROS'lar hücresel yaşlanmayı ve apoptozu indükleyebileceğini gösteren, hücre içi sinyalleşme kaskadlarında ikincil haberciler olarak hareket ettiğini kanıtlamaktadır [22].

Sürdürülebilir bir çevresel stres altında, ROS uzun bir süre boyunca üretilir bu nedenle hücre yapısında ve fonksiyonlarında önemli hasarlar meydana gelebilir. Bu durum somatik mutasyonlar ve neoplastik transformasyonlara neden olabilir [21, 23].

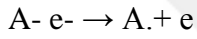
### 2.2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller dış yörüngelerinden birinde eşleşmemiş elektron bulunduran bileşikler olarak tanımlanırlar. Reaktif ve kısa ömürlü olan serbest radikaller, hücrede enerji üretimi için gerekli olan reaksiyonların veya belirli bir metabolizmanın devamı olarak üretilebilmektedir. Serbest radikaller başlıca 3 yolla meydana gelmektedir [24].

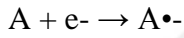
- Kovalent bağlı normal bir molekülün homolitik bölünmesi sonucu her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalması [25],



- Normal bir molekülün bir elektronun kayba uğraması,



- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi.



Üretilen bu radikallerin membran lipitlerine, hücre içi proteinlere ve nükleik asitlere etki ederek bu makro moleküllerin yapı ve fonksiyonları üzerinde değişikliklere yol açtığı ve hücre hasar meydana getirdiği bilinmektedir [25].

Serbest radikaller hücrelerin DNA gibi protein, lipid ve karbonhidratlardan oluşan önemli bileşiklerine etki eder, bu moleküllerin yapılarının bozulmasına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki hidroksil radikali (\*OH), süperoksit radikali (O<sub>2</sub>\*) ve nitrik oksit radikali (NO\*) gibi serbest radikaller, oksidatif stresin en önemli nedenleridir [26].

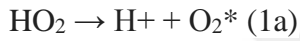
T ve B lenfositlerin, makrofajlar gibi inflamatuvar hücrelerin beta hücrelerine toksik etkilerini serbest radikaller aracılığıyla yaptığı düşünülmektedir [27].

Normal oksijenin az bir kısmı, başta mitokondride olmak üzere hücresel kompartımanlardaki metabolizma olayları sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerine dönüşür. Başlıca reaktif oksijen türleri süperoksit radikali (O<sub>2</sub>\*), hidroksil radikali (OH\*) ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'tir. Bunlardan ilk ikisi serbest radikalken, hidrojen peroksit ise prooksidan'dır [28].

Reaktif oksijen türleri, özellikle serbest radikaller, apoptoz için ortak araçlar olarak önerilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, hücre ölüm şeklinin oksidatif hasarın ciddiyetine bağlı olduğunu göstermiştir [29]. Oksijen radikalleri, memeli hücrelerinde sürekli olarak üretilir; bu, aerobik solunumda oksijen kullanımının bir sonucudur. Superoksit radikali mitokondri içinde üretilir ve sırasıyla hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerine indirgenir. Bu moleküller, DNA'ya zarar verir ve tümör oluşumunu başlatan ve ilerlemesini sağlayan mutasyonlara neden olur. [30]

### 2.2.1.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ )

Süperoksit radikali aerobik hücrelerde yer alan moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda meydana gelmektedir. Elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında, ksantin oksidaz gibi flavoenzimler yardımıyla endojen olarak oluşturulur (1a).

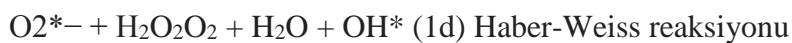
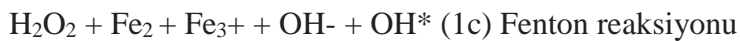


Ayrıca indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyonu süperoksit radikali meydana getirebilir (1b) [31].



### 2.2.1.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

Hidrojen peroksit ROS moleküllerinden biri olarak bilinmektedir. Serbest radikal olmadığı halde, serbest radikal oluşumunda önemli rol oynar. Hücresel kompartımanlarda bulunan ürat oksidaz, glikoz oksidaz ve D-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim iki elektronun oksijene transferi ile direk olarak hidrojen peroksit oluşturulur.  $Fe^{2+}$  veya diğer geçiş metallerinin (Fenton reaksiyonu) ve süperoksit radikalının ( $O_2^*$ ) varlığında (Haber-Weiss reaksiyonu) en güçlü radikal olan hidroksil radikalini ( $OH^*$ ) oluşturur [32,33].



### 2.2.1.3. Hidroksil Radikali ( $\bullet\text{OH}$ )

Hidroksil radikali son derece reaktif bir moleküldür ve ROS molekülleri arasında en güçlüsü olarak bilinmektedir. Yarılanma ömrü 9-10 saniyedir. Hidroksil radikali, Haber-Weiss reaksiyonu ve geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır (1c ve 1d).

\*OH radikali, olduğu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikaller oluşturur ve sonuçta hücrede hasara sebebiyet verir. [34]

## 2.3. NÖROTRANSMİTTER

İnsan beyni yaklaşık olarak 86 milyar nörondan meydana gelmiştir. Bu milyarlarca beyin hücresi, nörotransmisyon adı verilen bir süreçte sinaps denilen kimyasal mesajlar aracılığıyla birbirleriyle iletişim kuran eşsiz moleküllerdir [35].

Hormonlar, yapısal olarak genel manada ikiye ayrılır. Steroid ve steroid benzeri moleküller ( tiroksin, kortizol, östrojen) birinci grubu oluşturur. İkinci grup olarak ise protein, polipeptit ve glikoprotein (FSH, TRH, ACTH, Beta Endorfin) yapıda olan hormonlar sayılabilir. Hormonlar bir endokrin organdan salgınır ve kan yoluyla taşınırlar. Bir hormon bir nörotransmitter ile birlikte bulunuyorsa ya da birlikte salgınıyorsa, bu hormona "nöromodülatör" adı verilir. Hormon sekresyonu, hipotalamustan salgınan nörohormonlar ile uyanılır ve hedef hücre hormonlan, anterior pituiter bezden salgınan hormonlar aracılığı ile regüle edilir [36].

Bu enzimler öncü moleküllerden nörotransmitterler üretir ve yeni sentezlenen nörotransmitterler, bir taşıyıcı ve bir vakumlu His-ATPase gerektiren aktif bir işlem vasıtasıyla küçük salgılayıcı veziküllere (SSV'ler) paketlenir. Bazı küçük moleküllü nörotransmitterler için, nihai durum sinaptik veziküllerin içinde sentetik adımlar meydana gelmesidir. Daha büyük nörotransmitterlerin sentezinde ise peptitler genellikle hücre gövdesinde yer alır [37].

Nöronlar ve hedef hücreleri arasındaki kimyasal sinyal, sinir sisteminde bilgi işlemine aracılık eder. Nörotransmitter, nöral aktiviteye nöral aktiviteye salgınmasına cevaben presinaptik bir nörondan salgınır [38].

Stres hayatımızın kaçınılmaz bir unsurudur. Stresli olaylar sempatik sinir sistemini ve hipotalamik – hipofiz- adrenal eksenini aktive eder ve kortizol, katekolaminler ve nöropeptitler gibi stresin biyokimyasal mediatörlerinin salınımına yol açar [39, 40].

Adrenerjik sistem stres sinyallemede merkezi bir rol oynar ve aşırı stresin, ROS üretiminin artmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Aşırı ROS üretimi dokularda oksidatif hasara neden olur ve kanser gibi hastalıkların gelişmesine neden olduğu bilinmektedir [41].

Bu faktörlerin yüksek seviyeleri stresin klinik belirteçleri olarak kullanılır. Bu stres araçları, tansiyon ve kalp atım hızının yükseltilmesi ve bağışıklık tepkisinin artması gibi organizmanın performansını artırmak amaçlı çeşitli fizyolojik değişiklikleri tetikler. Bununla birlikte, stres kronik hale geldiğinde, aynı stres araçlarına uzun süre maruz kalma durumunda, akut stresin genellikle patolojik süreçleri de tetiklenir ve bu durumun gelişmesi sonucu kanser dahil birçok çeşitli hastalıkların ortaya çıkabildiği bilinmektedir [42].

### **2.3.1. Adrenalin**

Katekolaminlerin, kanser oluşumunun ve ilerlemesinin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir [43]. Adrenalin alfa ( $\alpha$ ) ve beta ( $\beta$ ) adrenerjik aktivite agonisti olan doğal bir katekolamindir [44].

Her yıl yaklaşık yarım milyon insanın hayatını kaybetmesine neden olduğu bilinen kolon kanseri, dünya çapında en yaygın kanser türünden biri olarak kabul edilmektedir [45]. Kemoterapi direnci, kolorektal kanser tedavisindeki en büyük sorunlardan biridir ve altta yatan mekanizmanın aydınlatılması kolon kanseri prognozunu daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. Son zamanlarda katekolaminlerin meme kanseri, akciğer kanseri ve pankreas kanseri gibi birçok kanser türünde tümör oluşumunun ve ilerlemesinin düzenlenmesinde rol oynadığı gösterilmiştir [46, 47].

Adrenalinin Kardiyopulmoner resüsitasyonda önemli yeri olduğu bilinmektedir ve anafilaktik şok tablosunda ilk tercih edilmesi gereken ajandır [48, 49].

### 2.3.2. Nöradrenalin

Kronik stresin neden olduğu depresyon, Morbidite oranı yüksek olan birçok psikiyatrik hastalığın ortak özelliği olarak bilinmektedir. Noradrenerjik sistemin stres kaynaklı düzensizliği, depresyon patogeneğinde önemli rol oynamaktadır [50].

Norepinefrin (NE), nöronal ve nöronal olmayan hücrelerin aktivitesini çeşitli yollardan düzenleyen bir nöromodülatördür. Beyindeki çoklu NE kaynaklarından, locus coeruleus (LC) noradrenerjik sinyalleşmede önemli bir rol oynar [51]. Bir katekolamin olan Noradrenalin, vücut sıvılarında mevcut olan bir aromatik amino asit olan L-tirosinden türetilir ve noradrenalin üreten hücreler tarafından alınır [52].

### 2.3.3. Dopamin

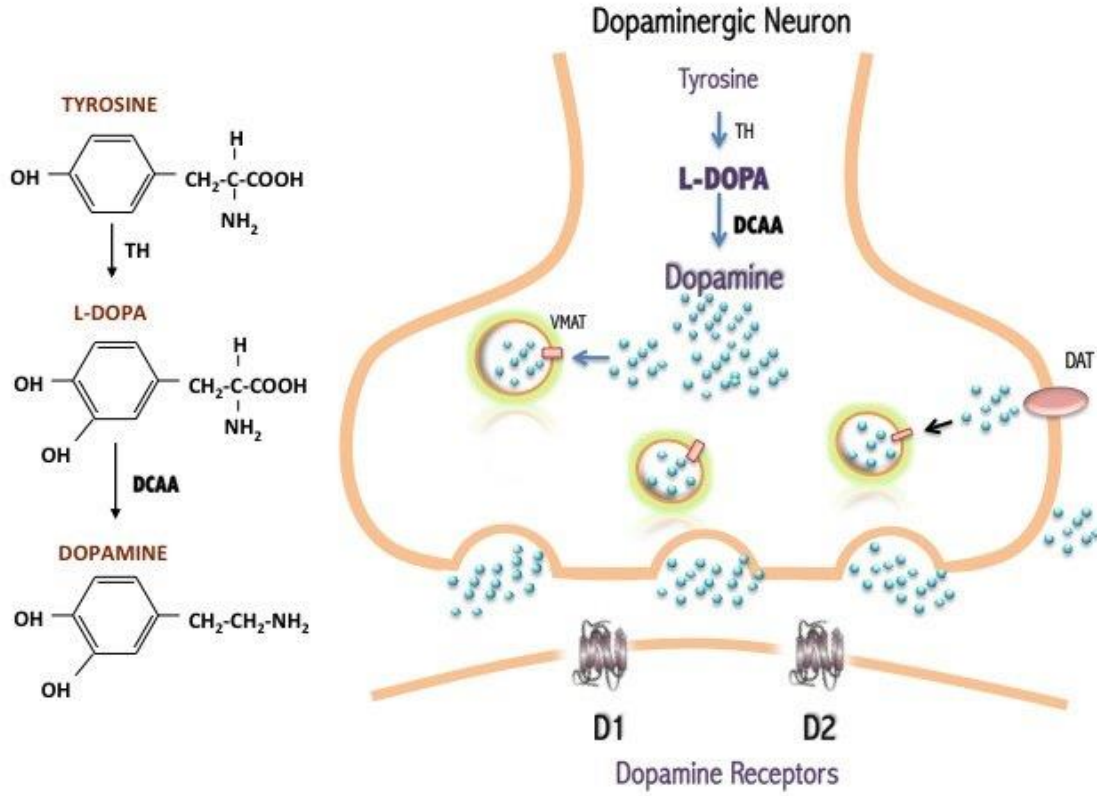
Dopamin, katekolamin ailesinin organik bir kimyasal maddesidir. Esas olarak sinir sisteminde bir nörotransmitter olarak işlev görür. Dopamin, beyinde ödül ve zevk merkezlerini düzenler ve hareket ve duygusal tepkilerin kontrolünde kritik rol oynar [53].

Demir insan vücudunda en bol bulunan metaldir ve temel olarak hemoglobin ve çeşitli enzimler gibi proteinler için bir kofaktör olarak çalışır. Demirin insan vücudun da azalması veya aşırı yüklenmesi, hastalıklara neden olabilmektedir. Araştırmalar, dopaminin ferroptozda lipid peroksidasyonunu en az iki farklı yoldan inhibe ettiğini göstermiştir. İlk olarak dopaminin, hücrelerde demir birikimini azaltma yeteneğine sahip olduğu görülmüştür. [54, 55].

İkinci olarak ise dopaminin, lipid peroksidasyonuna karşı korunma yoluyla bir ferroptoz inhibitörü olduğu gösterilmiştir. Aslında, dopamin, alfatokoferol gibi diğer ilgili bileşiklerden daha güçlü bir antioksidan aktiviteye sahiptir ve dopaminin potansiyel ferroptoz inhibitörü olduğu kanıtlanmıştır [53].

Normal mide dokularında önemli miktarlarda bulunan dopamin birçok gastrik fonksiyonda rol oynadığından, bu nörotransmitterin mide kanserinin büyümesinde ve ilerlemesinde rolü araştırılmıştır. Dopaminin mide kanseri tedavisinde anti anjiyojenik ajan olarak bir rolü olabileceğini gösterilmiştir. Hem insan hem de sıçan mide kanseri dokularında Dopamin ve tirozin hidroksilaz enzimi bulunmamaktadır. Aksine, farmakolojik olarak toksik olmayan dozlarda uygulanan dopaminin, dopamin D2 reseptörlerini eksprese eden tümör endotel

hücrelerinde VEGFR (Vasküler Endotel Büyüme Faktörü)-2 fosforilasyonunu inhibe ederek tümör anjiyogenezini önemli ölçüde geciktirdiği görülmüştür [56].



Şekil 2.2: Dopaminerjik sinir terminallerinde L-DOPA'dan dopamin sentezi. [57]

#### 2.3.4. Serotonin

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), öncelikle diyet yoluyla elde edilen esansiyel amino asit triptofandan üretilen bir biyojenik monoamindir. Toplam vücut serotoninininin %1'inden daha azı kanda serbest halde dolaşır [58].

Serotonerjik nöronların hücre gövdeleri beyin sapı çekirdeğinde bulunur. Bu nöronlar, korteks, bazal ganglionlar, serebellum, talamus, hipokampus ve amigdala gibi limbik bölgeler ve omurilik gibi beyin alanlarında yer almaktadır. Farklı 5-HT reseptör alt tipleri beyinde spesifik bir dağılıma sahiptir. Raphe çekirdeklerindeki otrektörler nöronal hücre gövdelerinde (5-HT1A) veya terminal bölgelerinde ve presinapse (5-HT1B) terminal bölgelerinde ve raphe çekirdeklerinde görülmüştür. Terminal bölgelerdeki diğer 5-HT reseptör alt tiplerinin gösterilmesi, 5-HT nöronlarındaki heteroreseptörleri veya postsinaptik reseptörleri temsil etmektedir [59].



Serotonin çeşitli sinyal yollarına bağlı olarak çok sayıda reseptör ile etkileşime girer ve bazen farklı tipteki bu reseptörlerin antogonist etkileri olabilmektedir. Serotoninin iyi bilinen fonksiyonlarına ek olarak, çok çeşitli normal ve tümör hücreleri için mutajenik etki gösterebilir. Serotonin, 5-HT<sub>1</sub> ve 5-HT<sub>2</sub> reseptörleri agresif kanserlerde ve karsinoidlerde uyarıcı etki göstererek tümörlerin daha çok büyümesine neden olmuştur. Buna karşılık, düşük serotonin dozunun tümör büyümesini engelleyebildiği ve bu durum tümör büyümesinin serotonin konsantrasyonuna bağlı olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Kanser hücre göçünde, serotonin tutulumuna ilişkin veriler metastatik süreçleri ve anjiyogenezin ortaya çıktığını göstermektedir. Serumda düşük serotonin düzeylerine bakıldığında, mesanedeki ürotelyal karsinomun, prostatın adenokarsinomu ve renal hücreli karsinomun prognoz değerlendirmesinde uygun olduğu bulunmuştur. Bazı durumlarda, serotonin reseptörlerinin antagonistleri, seçici serotonin taşıyıcı ve serotonin inhibitörleri sentezi, kanser hücresi büyümesini önlemek için başarıyla kullanılmıştır [60].

Serotoninin tümör ilerlemesini destekleyen ve indüklenen sinyalleme yolları karmaşıktır ve bazı kanser türlerinde sadece kısmen anlaşılmıştır. Çeşitli çalışmaların sonuçları gösteriyor ki tümördeki serotonin konsantrasyonu kanser gelişiminde çok önemli bir rol oynamaktadır. Çeşitli katı tümörlerin ilerlemesinde nöroendokrin hücreler tarafından salgılanan serotonin üretimi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Serotonin reseptörleri, seçici serotonin taşıyıcı ve sentez yolları, terapötik yaklaşımların sınırlı olduğu birçok kanserin tedavisi için potansiyel kemoterapötik hedefler olduğu söylenebilir. Birçok çalışmanın sonuçları, tümördeki serotonin seviyelerinin kanserin ilerlemesinde önemli bir rol oynadığını ve birkaç kanserde serotoninergik endokrin döngünün önerildiğini göstermiştir [61].

Depresyon, anksiyete ve bazı davranışsal bozuklukların tedavisinde kullanıldığı bilinen seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) June Kuwahara ve ark. tarafından, 2015 yılında, selektif serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI'lar) çeşitli kanser hücreleri üzerindeki anti-tümör etki gösterdiğini rapor ettiler [62].

### 2.3.5. Gaba (Gama aminobutirik asit)

Gama aminobutirik asit (GABA) hem eksitatör hem de inhibitör etki gösteren bir nörotransmitter olarak bilinmektedir. Çoğunlukla birincil inhibitör nörotransmitteridir ve merkezi sinir sisteminde rol alırlar. GABA nöronların yaklaşık %25 ila %50'sinde bir esas inhibitör nörotransmitter olarak bulunur. [63].

Eksitatör etki göstererek hücrenin depolarizasyonuna, inhibitör etki göstererek hücrenin hiperpolarizasyonuna neden olurlar. Bu durum Cl<sup>-</sup> iyonlarının membran iletkenliğini değiştirerek membran potansiyel farkı oluşturarak meydana gelmektedir. GABA düşüklüğü anksiyete, ağrı, depresyon, uykusuzluk ve epilepsi dahil olmak üzere çeşitli psikiyatrik ve nörolojik bozukluklarla ilişkilidir. Ayrıca hipotansif, sakinleştirici, idrar söktürücü ve antidiyabetik etkileri olan GABA, serumdaki lipid seviyelerini düzenler, kanser hücresinin çoğalmasını önler ve hafızayı ve öğrenme yeteneklerini geliştirir [64].

Çoğu durumda, GABA reseptörlerinin veya diğer sinyal bileşenlerinin seviyeleri kanser hücrelerinde düzenlenir. Karaciğer, pankreas ve prostat tümörlerinde değişen GABAerjik sinyalleşme unsurları kanser hücrelerinin ve belki de kanser kök hücrelerinin çoğalmasını manipüle etmek için terapötik hedefler sağlayabilir. Kanıtlar, GABA'nın tümör hücresi proliferasyonunu da kontrol edebileceğini düşündürmektedir. Birçok kanserin, hızla bölünen hücreler ve farklılaşmış tümör hücreleri üreten nadir, kendi kendini yenileyebilen kanser kök hücrelerinden türetildiği iddia edilmiştir. [65]

### 2.3.6. Asetilkolin

Asetilkolin, organizmada Kolin ile, Asetil-Co-enzim-A' dan asetil transferaz yardımıyla bir açıl grubunun transfer edilmesiyle sentezlenir. Asetilkolin bilişsel işlem sisteminden sorumlu olduğu bilinmemektedir. Asetilkolin beyindeki dikkat ile ilişkilendirilmiş nöromusküler kavşaktaki nöronlar ve kas gibi otonom ganglionlarda iletişime doğrudan katılarak nörotransmisyonu etkiler [66].

Antipsikotik ilaçların tedavisinde kullanıldığı bilinen asetilkolinin kanser üzerindeki etkisiyle ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Merkezi ve periferik sinir sisteminin fonksiyonlarını düzenlenmesinden sorumlu olan Asetilkolin, son zamanlarda yapılan çalışmalarda tümörigenezde de önemli bir rol oynadığını göstermektedir [67].

Prostat tümörlerine sahip farelerde yapılan çalışmada, 50 mikromolar dozlarda uygulandığında prostat kanseri büyümesini ve metastazı uyarabildiği görülmüştür. Mide kanseri hücrelerinde asetilkolin M3R ve EGFR yolağının aktivasyonu sağlayarak hücre çoğalmasını teşvik ettiği ortaya çıkmıştır. Çalışmada, asetilkolinin mide kanseri hücrelerinde proliferasyonunu artırıcı rolü olduğu görülmüştür. [68]

### **2.3.7. Glutamat**

Glutamat esansiyel olmayan bir aminoasittir. Hem normal ve neoplastik hücrelerin proliferasyonunda görev görürken hem de biyosentetik, biyoenerjetik, metabolik ve onkojenik sinyal yollarında aktif olarak yer alan bir uyarıcı nörotransmitterler olarak görev alır. Glutamat tümör gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Nörol ve nöral olmayan büyüme faktörü olarak etki ederler. Glutamat reseptörleri birçok seviyede etkileşim halinde görünmektedir. Her bir glutamat reseptörünün glutamat salınımında kendine özgü bir role sahip olduğu bilinmektedir.

Glutamat öğrenme, bellek ve algı gibi birçok bilişsel fonksiyonlarda görev almaktadır. Glutamat birçok nörodejeneratif hastalıkta görülen eksitotoksisite ile ilişkilendirilmektedir. Şizofreni patogenezinde glutamat disfonksiyonun katkısı bulunmaktadır.

Glutamat nöronal aktivite, stres cevabı ve adaptasyonda kritik rolleri olduğu bilinen minerokortikoid, glukokortikoid ve N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri aracılık eder. Stres nedeniyle kortizol ve glutamat gibi eksitator nörotransmitterlerin salınımı, reseptör sonrası döngülerin aktivasyonuna ve mitokondri aracılığı ile salınan kapkazlar yoluyla nekrotik ya da apoptotik hücre ölümüne yol açar. Mitokondri zarı üzerinde yer alan proapoptotik proteinler arasındaki denge hipokampal nöron hayatta kalımı açısından kritik öneme sahiptir. Sonuç; glutamat beyinde sinyal iletiminde ve ayrıca genetik, yapısal ve sinaptik düzeylerde nöroplastisinin düzenlenmesinde merkezi bir yerde bulunmaktadır.

Glutamat ile ilgili reseptörlerin ve bunların sinyal yollarının, çeşitli malign insan hastalıkları için yeni terapötik fırsatlar sağlayabileceği düşünülmektedir [69].

Glutamat eksitotoksitesiyini zamanda oksidatif strese yol açarak nöronal hücre ölümünü hızlandırmaktadır.

Alzheimer, Parkinson, Huntington ve multiple skleroz gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıkların patogeneğinde, glutamat eksitotoksitesisi önemli bir rol oynamaktadır.

### **2.3.8. Endorfin**

Endojen nöropeptitler ilk olarak 1970'lerin ortalarında iki bağımsız laboratuvar tarafından tanımlandı ve adlandırıldı. Endorfinler, ilk tanımlanan endojen opioid peptitler olarak bilinmektedir. Endorfin aktivitesi uyarıldığında bireyler de doğal olarak veya kimyasal yollarla ağrı ve iyileşmiş refah hissi vermektedir [70].

Günümüzde stresli yaşam, sinir, endokrin ve bağışıklık sistemlerini modüle ederek kanser büyümesini ve metastazını etkileyebileceği giderek daha açık bir şekilde ortaya çıkarmaktadır. Çalışma da vücut stresinin azaltılmasının kanser büyümesini ve ilerlemesini önleyebileceği açıklamıştır. Opioid peptidi beta-endorfin (BEP), stres eksenini bir homeostaz durumuna getirmede kritik bir rol oynar. Son yıllarda, BEP nöron nakli yoluyla hipotalamustaki endojen BEP seviyelerinin artmasının, stres yanıtını baskıladığı, bağışıklık fonksiyonunu desteklediği ve sıçan prostat ve meme kanseri modellerinde kanser insidansını azalttığı gösterilmiştir. BEP'in kanser önleyici etkisine, artmış periferik doğal öldürücü hücre (NK) hücresi ve makrofaj aktiviteleri, yüksek anti-enflamatuar sitokin seviyeleri ve düşük enflamatuar sitokin seviyeleri ile sonuçlanan sempatik nöronal fonksiyonun baskılanması aracılık etmektedir. Tümör ilerlemesinin BEP inhibisyonu ayrıca, muhtemelen DNA onarımı, hücre-matriks ekleri, anjiyogenik işlem ve epitelyal-mezenkimal geçişi değiştirdiği bilinen katekolamin ve enflamatuar sitokinlerin üretiminin baskılanması nedeniyle tümör mikroçevresindeki değişiklikleri de içerir. [71]

Zhang C., ve ark. Hayvan modeli olarak fareler kullanarak, beta-endorfin nöronlarının hipotalamusa transplantasyonunun, çeşitli dokularda kanserojen ve hormon kaynaklı kanserleri baskıladığını ve doğal immün fonksiyonlarının aktivasyonu ile yerleşik tümörlerin büyümesini ve metastazını önlediğini göstermişlerdir. Kemoprevensiyon üzerinde faydalı bir etki elde

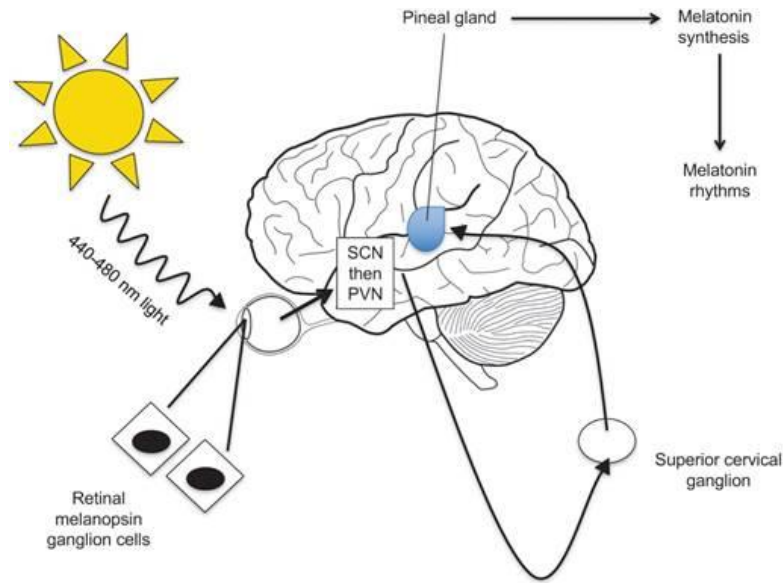
etmek için BEP'nin uzun süreli verilmesi zordur, çünkü peptid hızlı bir şekilde tolerans geliştirmektedir. [72]

Nöroimmün sistemin beta-endorfin nöronal takviyesi / indüksiyonu yoluyla aktivasyonunun, kanserin önlenmesi ve genel sağlığın iyileştirilmesinin terapötik değeri olabileceği sonucuna varmıştır. Elde edilen bu veriler, BEP nöron transplantlarının, genel olarak, kanserojenlerin, çeşitli dokulardaki tümör gelişimini ve büyümesi üzerine tümör gelişimini etkilemesini engellediklerinden, tümörogenezine karşı koruyucu etkilere sahip olduğunu göstermektedir. [72]

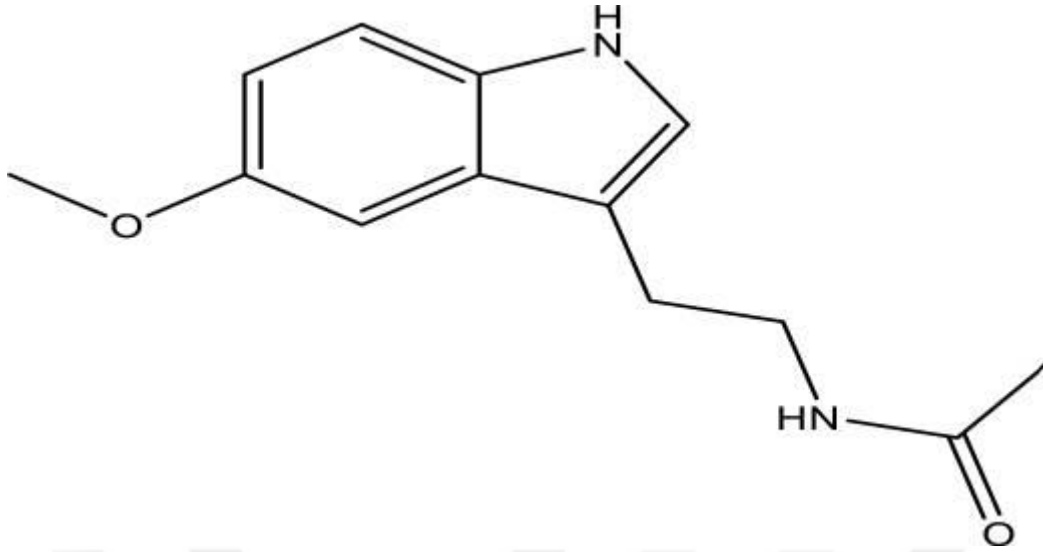
### 2.3.9. Melatonin

N asetil-5-metoksitriptamin olarak bilinen melatonin, pineal bez ve cilt, retina, kemik iliği diğer organlar tarafından üretilen bir hormondur. [73]

Melatoninin sentezi ve salgılanması, hipotalamunun suprachistamik çekirdeğinde (SCN) bulunan “ana biyolojik saat” tarafından düzenlenir. Melatoninin kan serum seviyeleri bu hormonun sirkadiyen ritimle ilişkili olduğunu göstermiştir. Salgısı karanlıkla uyarılır ve ortam ışık bulunması durumunda salgısı azalmaktadır. Serum seviyeleri sabah 2 ile akşam 5 arasında en yüksek seviyeye ulaşır. [74]



Şekil 2.3: Melatonin.



**Şekil 2.4: Melatoninin yapısı.**

Epidemiyolojik çalışmalar, melatoninin farklı tümör tipleri üzerinde olası bir onkostatik özelliğini olduğunu göstermiştir. Ayrıca, deneysel çalışmalar melatoninin bazı insan tümör hücrelerinde *in vitro* ve hayvan modellerinde büyüme inhibisyonu gösterebileceğini göstermiştir. Altta yatan mekanizmalar arasında antioksidan aktivite, melatonin reseptörleri MT1 ve MT2'nin modülasyonu, apoptozun uyarılması, sağkalım önleyici sinyalin düzenlenmesi ve tümör metabolizması, anjiyojenez üzerinde inhibisyon, metastaz ve epigenetik alterasyonun indüksiyonu bulunur. Melatonin ayrıca terapötik etkileri güçlendirmek ve kemoterapilerin veya radyasyonun yan etkilerini azaltmak yoluyla kanser terapilerinin adjuvanı(destekleyicisi) olarak da kullanılabilir. Melatonin, meme kanseri, prostat kanseri, mide kanseri ve kolorektal kanser gibi birçok kanserin önlenmesi ve tedavisi için üstün bir molekül olabilir. [75]

Melatonin ve türevlerinin antioksidanlar olarak keşfedilmesi, bu moleküllerin zararlı reaktifleri detoksifiye etme ve moleküler hasarı azaltma kabiliyetini belgeleyen çok sayıda çalışmayı teşvik etmektedir. Bunun bir sonucu, nadiren düşük toksisite profiline sahip olan melatoninin uygulanmasının, bazı hastalıkların ilerlemesini teorik olarak erteleyebileceğini ve muhtemelen yaşlanma belirtilerini önleyebileceği yönündedir. Kuşkusuz ki, önümüzdeki on yıldaki araştırmalar melatoninin yaşa bağlı hastalıklarda ve yaşlanmanın belirlenmesindeki rolünü tanımlamaya yardımcı olacaktır. [76]

Melatonin, hem Ş kemik iliği hem de dokularda, sadece NK hücrelerinin yanı sıra T ve B lenfositlerinin, granüositlerinin ve monositlerinin değil, aynı zamanda konakçı savunmasında yer alan hemen hemen tüm hemopoietik ve immün hücre soylarının proliferatif ve olgunlaşma aşamaları da dahil olmak üzere hücre dinamiklerini düzenlemektedir. Melatonin normal granüositlerin ve B lenfositlerin hayatta kalmasını destekleyen güçlü bir antiapoptotik sinyaldir. Ayrıca melatoninin, tümör gelişimini önleyen lenfositlerin ve monositlerin / makrofajların aktivasyonuna katıldığı gösterilmiştir. Böylece, melatonin, hemopoez ve immüno-güçlenmedeki bir sistem düzenleyici olarak temel bir role sahip olduğu görünmektedir. Bu bulgular, kanser kemoprevensiyonunun gelecekteki gelişimi için önemlidir. [77]

Uyku teşviki ve sirkadiyen saatlerdeki rolüne ek olarak, melatonin ayrıca güçlü bir antioksidan ve serbest radikal temizleyici olarak hareket ederek makromoleküllerin, nükleer DNA ve mitokondriyal DNA'nın koruyucusu olarak görev yapar. Melatonin doğrudan serbest radikalleri temizler, çeşitli antioksidan enzimleri uyarır, oksidatif enzimleri inhibe eder, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonun etkinliğini artırır ve böylece elektron sızıntısını ve serbest radikallerin oluşumunu azaltır. Ayrıca, melatoninin oksidatif ve hücrel hasarın direncine yardımcı olarak hücrel membranları stabilize ettiği gösterilmiştir. [78]

#### **2.4. MİKRONÜKLEUS TEKNİĞİ**

Mikronükleus (MN) ışık mikroskopuyla görülebilen, bir hücrenin sitoplazmasında bulunan, hücrenin ana çekirdeğiyle benzer boyanan, incelenen hücrenin tipine bağlı olarak hücre çekirdeğinin üçte birinden büyük olmayan ve çoğunlukla yuvarlak veya hafif oval şekilli yapılardır. MN'ler tam asentrik veya kromozom parçalarından köken alan oluşumlar olarak bilinmektedir.

Mikronükleus tekniğinin, kromozomal mutasyon kanserogeneizde önemli bir rolü vardır. Kromozom düzeyinde DNA hasarının incelenmesi genetik toksikolojinin önemli bir parçasıdır. Mikronükleus analizleri, kromozom hasarını değerlendirmek için tercih edilen yöntemlerden biri olarak ortaya çıkmıştır hem kromozom kaybı hem de kromozom kırılmasının güvenilir bir şekilde ölçülmesini sağlamaktadır. Yöntem genetik hasarın popülasyonunun izlenmesi, genotoksik potansiyel için kimyasalların taranması ve tümörlerin radyo-duyarlılığının

öngörülmesi ve radyo-duyarlılıktaki bireyler arası varyasyon gibi spesifik amaçlar için çeşitli hücre tiplerine uygulanmaktadır. [79]

Genotoksisite testlerinde hedef DNA molekülü olduğu için yapılan çalışma sonuçları insan sağlığıyla ilgili ortaya çıkabilecek sorunların belirlenmesinde kullanılabilir. Bir türün DNA'sında hasara neden olan bir maddenin farklı türden canlıların DNA'sında hasar oluşturabileceğini düşünerek günümüzde genotoksik etkilerin incelenmesini daha çok amaçlanabilir.

MN testi, genotoksik ve kanserojen potansiyelleri hakkında bir araştırma aracı sağlayan pratik bir biyo-izleme testidir. Fiziksel ajanların, ilaçların ve insanların her gün maruz kaldıkları kirleticiler, gıda katkı maddeleri gibi diğer tüm kimyasalların güvenilirliği ve kanser riskini tahmin etmeye ve izlemeye yardımcı olabilmektedir. Güvenilirliği, kolaylığı, geçerliliği ve farklı tipteki hücelere uygulanabilirlik gibi avantajları nedeniyle yıllarca kullanılmış olan MN tekniği, mutajenitenin değerlendirilmesinde ve önlenmesinde gelecekte de önemli bir rol oynayacaktır. [80]

i) iki nükleus eş boyutlara sahip olmalıdır.

ii) hücreler 6'dan fazla MN içermemelidir.

iii) 2 nükleus arasında nükleoplazmik köprü bulunabilir

iv) iki nükleus köşelerden birbirine dokunabilir ya da hafifçe üst üste binmiş olabilir

Mikronükleus yapılarının Fenech'in (4) sayım kriterleri belirlenmesi;

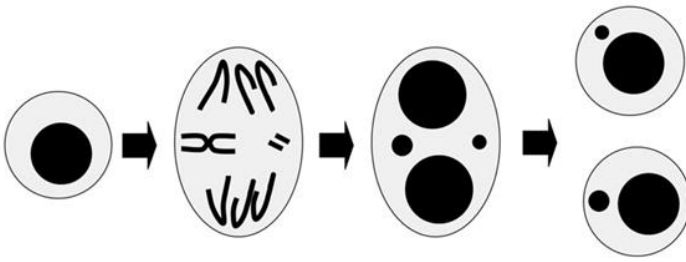
1. Hücreler binukleat (BN) olmalıdır.

2. BN'in her bir nükleus nüklear membranla temas halinde olmalı ve aynı sitoplazmik sınır içinde yer almalıdır.

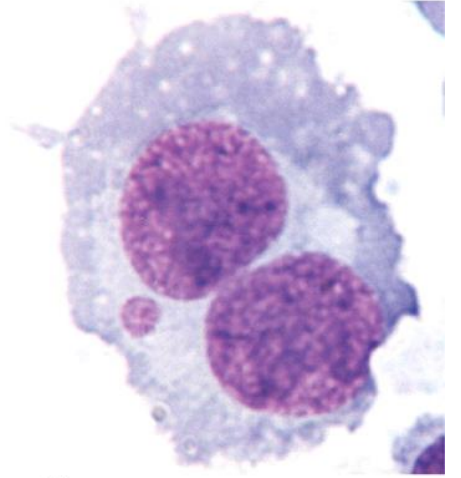


3. BN içindeki iki nukleus da yaklaşık aynı boyutta, aynı yapıda olmalı, aynı şekilde boya almış olmalıdır.
4. BN içindeki iki nukleus nukleoplazmik köprü ile bağlanabilir. Bu nukleoplazmik köprü nukleus çapının 1/4'ünden büyük olmamalıdır.
5. BN'ın iki nukleusu birbirine temas edebilir ancak üst üste binmemelidir. Üst üste binmiş binukleatlarda ancak iki nukleusun sınırları da birbirinden ayrı seçilebiliyorsa sayılmalıdır.

Micronucleus formation - Chromosome breakage or loss



A)



B)

Şekil 2.5: Sitokinez-bloklanmış bir lenfosit hücrenin fotomikrografisi. [81]

### 3. MALZEME VE YÖNTEM

Bu tez projesinde, insan kökenli lenfoblast hücre soyu olan TK6 hücresi kullanılmıştır. Hücrelerde 50  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  etkisi ile stres koşulları oluşturulmuştur. 5 ml flasklara  $0,5 \times 10^6$  hücre ekimi yapıldı. Oluşturulan stres koşullarında nörotransmitterin etkisini görmek için Dopamin Serotonin ve Melatonin kullanılmıştır. Ayrı etkilerinin yanında her üç nörotransmitterin kombinasyon dozları da denenmiştir. Bu çalışmada dopamin, serotonin ve melatoninin *in vitro* ortamında farklı dozları test edilmiş, koruyucu özellikleri düşünülerek konsantrasyon miktarları hesaplanmıştır.

#### 3.1. DENEY MATERYALLERİ

##### 3.1.1. Dopamin

Bu projede kullanılan nörotransmitterden biri olan dopamin suda çözünen sentetik bir maddedir. Kimyasal adı dopamin hidroklorürdür. Molekül ağırlığı: 189,64 mg/ml ve kimyasal formülü:  $(\text{HO})_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{HCl}$ 'dir. 6,25, 12,5, 25, 50 ,100  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Serotonin

Suda çözünen serotoninin kimyasal adı serotonin hidroklorürdür. Molekül ağırlığı: 212,68 mg/ml ve kimyasal formülü:  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HCl}$ 'dir. Kullanılan doz miktarları 12,5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{M}$ 'dir.

##### 3.1.3. Melatonin

Melatonin suda çözünen bir nörotransmitterdir. Molekül ağırlığı: 232,8 mg/ml ve kimyasal formülü:  $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ 'dir. 12,5, 50, 100, 200, 300  $\mu\text{M}$  konsantrasyonlarında kullanılmıştır.

#### 3.2. HÜCRE KÜLTÜRÜ

Toksikoloji çalışmalarına uygun olan TK6 lenfoblast hücrelerinin *in vitro* çalışmalarda devamlılığı için haftada iki kez olmak üzere deney süresince pasajı yapıldı. RPMI-1640 Hepes medyumunu ve %10 Fetal bovine serum kullanıldı. %5  $\text{CO}_2$  içeren  $37^\circ\text{C}$  etüvde muhafaza edildi.

Bu çalışma da dopamin, serotonin ve melatonin *in vitro* ortamında farklı dozları test edilmiş koyucu özellikleri düşünülerek konsantrasyon miktarları hesaplanmıştır.

### 3.3. MN TESTİ

Dopamin, serotonin, melatonin dozları ve hidrojen peroksit dozları aynı anda hazırlanarak belirtilen miktarlardaki nörotransmitter dozları ve 50  $\mu\text{M}$  dozunda  $\text{H}_2\text{O}_2$  uygulanmıştır. 0. dakikada hasar ve tedavi dozları verildikten sonra hücreler 15 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. 15 dakika sonunda 1 kez yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işlemi hücre medyumunu ile gerçekleştirildi. Deneyin 4. saatinde hücreleri sitokineзде durdurmak için 3  $\mu\text{g/ml}$  Cytochalasin-B uygulandı. 48. saatte inkübasyona süresi sonlandırılarak fiksasyon işlemine geçildi. İnkübasyon süresi dolan hücreler 200 g'de 8 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantı alınan tüplere 0,075 M KCl çözeltisi eklenip 8 dk daha santrifüj edildi. Bu işlem sonunda süpernatant kısmı tekrar atılıp pelete 7:1 oranında metanol asetik asit karışımı uygulandı. 2 tekrar halinde uygulanan metanol asetik asit karışımı sonrasında buzlu lamlara hücreler 15 cm yükseklikten damlatılarak ve kurumaya bırakıldı. Tamamen kuruma gerçekleştikten sonra fosfat tamponlu %5'lik giemsa boyası ile 5 dk muamele edilerek preparatların boyaması gerçekleştirildi. Ardından her preparat saf sudan geçirilerek 24 saat kurumaya bırakıldı. Entellan ile üzerilerine lamel kapatılan preparatlar, 24 saat kurutuldu ve sayıma hazır hale getirildi. Dopamin, serotonin, melatonin ve bunların kombinasyonları farklı dozlar ile uygulandı. Her set iki kez tekrarlandı.

Dopaminin koruyucu etkisinin test edildiği deneyde toplam 12 flask kullanılmıştır. 1. flask kontrol dozu olarak belirlenmiş ve hiçbir doz uygulanmamıştır. 2,3,4,5 ve 6 numaralı flaslara sırasıyla 6,25, 12,5, 25, 50 ,100  $\mu\text{M}$  dozları uygulanmıştır. 7. flask hidrojen peroksitin kontrolü olarak belirlenip sadece hidrojen peroksit uygulanmıştır. Geri kalan numaralarda ise 50  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ile birlikte sırasıyla 6,25, 12,5, 25, 50 ,100  $\mu\text{M}$  dopamin dozları uygulanmıştır.

Serotonin deneyinde toplamda 12 flask kullanılmış, 1 numaralı flask kontrol dozu olarak belirlenip hiçbir tedavi uygulanmamıştır. 2,3,4,5 ve 6 numaralı flaslara sırasıyla 12,5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{M}$  serotonin uygulanmıştır. 7 numaralı flask hidrojen peroksitin kontrolü olarak belirlenip sadece 50  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  uygulanmıştır. 8,9,10,11 ve 12 numaralı flaslara ise 50  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ile birlikte sırasıyla 12,5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{M}$  verilmiştir.

Melatoninin koruyucu etkisinin incelendiği deneyde de toplam 12 flask kullanılmıştır. 1. kültür kontrol dozu olarak belirlenmiş ve hiçbir doz uygulanmamıştır. 2,3,4,5 ve 6 numaralı flasklara sırasıyla 12,5, 50, 100, 200, 300  $\mu\text{M}$  dozları uygulanmıştır. 7. flask hidrojen peroksitin kontrolü olarak belirlenip sadece hidrojen peroksit uygulanmıştır. Geri kalan numaralarda ise 50  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ile birlikte sırasıyla 12,5, 50, 100, 200, 300  $\mu\text{M}$  melatonin dozları verilmiştir.

Dopamin, serotonin ve melatonin kombinasyonu deneyinde ise toplamda 12 flask kullanılıp 1 numaralı flask hücre kontrolü 7 numaralı flask ise hidrojen peroksit kontrolü olarak belirlenmiştir. 2,3,4,5 ve 6 numaralı flasklara sırasıyla 6,25, 12,5, 25, 50, 100  $\mu\text{M}$  dozlarında dopamin, 12,5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{M}$  dozlarında serotonin ve 12,5, 50, 100, 200, 300  $\mu\text{M}$  dozlarında melatonin uygulanmıştır. 8, 9, 10, 11 ve 12 numaralı flasklara ise hem 50  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  hem de sırasıyla dopamin, serotonin ve melatonin dozları uygulanmıştır.



**şekil 3.1: İnkübasyon iřin bekletilen flasklar.**

Çalışma deney prosedüründe dopamin, serotonin, melatonin ve kombinasyon denemelerinde birçok parametre değişkenleri değiştirilerek deneyleri yapılmıştır. Farklı çalışmalardaki literatür verileri kullanılarak tedavisi süresi ve uygun sıcaklık koşulları oluşturulması sağlanmıştır. İnsan kökenli TK6 lenfoblast hücrelerinde en iyi sonucu veren, tedavi edici doz süresinin 15 dk olduğu ve inkübasyona bırakılan sıcaklık koşullarının ise oda sıcaklığında olduğu görülmüştür.



Şekil 3.2: CO<sub>2</sub> İnkübasyonunda bekletilen flasklar

### 3.4. PREPARATLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hücrelerin deney sonuçlarının incelenmesi Nikon E100 ışık mikroskopunda gerçekleştirildi. Hücreler x400 büyütmede incelenip, mikronükleusların teyidi x1000 büyütmede kontrol edildi. Dopamin, serotonin, melatonin ve kombinasyon uygulanan kültür sonucunda elde edilen BN

hücrelerdeki MN frekansları kendi aralarında değerlendirildi. Her grubun proliferatif indeksi (Pİ) belirlenip farklı dozları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sonucu ilişkisi değerlendirildi. Pİ değerleri aşağıda verilen denkleme göre hesaplanmıştır (Denklem 4.1)

$$P\dot{I} = (M1 + 2M2 + 3 M3 + 4 M4) / N \quad (4.1)$$

(M1: Bir nükleuslu hücreler, M2: İki nükleuslu hücreler, M3: Üç nükleuslu hücreler, M4: Dört nükleuslu hücreler ve N: Toplam hücre sayısı)

### 3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlarda verilen grafikler regresyon analizi ile elde edilmiştir. Farklı kombinasyonlarda dopamin, serotonin, melatonin ve kombinasyonları hidrojen peroksit+dopamin, serotonin, melatonin uygulanması ile elde edilen MN ve Pİ verilerinin istatistik karşılaştırmaları Graphpad Prism 8.0 programı ile yapılmıştır. Non lineer regresyon analizine göre birinci dereceden denklem ile çizilen eğriler F testi ile karşılaştırılıp F ve p değerlerine ulaşılmıştır.



#### 4. BULGULAR

Dopamin grubuna ait 2 ayrı deney sonuçları Tablo 4.1 ve Tablo 4.2’de verilmektedir. Sadece H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan 7 numaralı kontrol flaskı ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile birlikte en yüksek dopamin dozunun uygulandığı 12 numaralı flaskta hedeflenen 1000 BN hücre sayılamamış, diğer tüm flasklarda 2 set halinde elde edilen BN hücre sayıları 1000 üzerinde olmuştur.

**Tablo 4.1: Dopamin 1. Set doz-cevap tablosu.**

No	Dopamin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	Çoklu nükleuslar								Pİ
					M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	
1	0	1219	5	0.0041	817	10	176	219	143	62	35	15	2.2741
2	6,25	1462	3	0.0021	834	18	139	161	75	25	10	2	2.0051
3	12,5	1062	4	0.0038	575	22	38	40	18	11	2	1	1.8061
4	25	1012	7	0.0069	423	19	29	36	24	5	3	1	1.8653
5	50	1009	11	0.0109	557	17	31	40	15	10	2	1	1.7949
6	100	1002	4	0.0040	525	11	34	30	22	15	7	2	1.8434
No	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Dopamin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Pİ
7	0	901	4	0.0044	495	21	26	39	27	14	6	2	1.8615
8	6,25	1000	7	0.0070	348	23	18	26	15	12	4	1	1.8901
9	12,5	1006	13	0.0129	267	29	24	31	23	11	5	8	2.0036
10	25	1000	15	0.0150	502	38	23	23	20	14	4	1	1.8209
11	50	1003	19	0.0189	314	32	24	39	19	10	5	1	1.9419
12	100	289	5	0.0173	140	11	5	9	2	1	1	0	1.7773

7-12 numaralı flasklarda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> her bir flask için 50 µM dozunda uygulanmıştır.

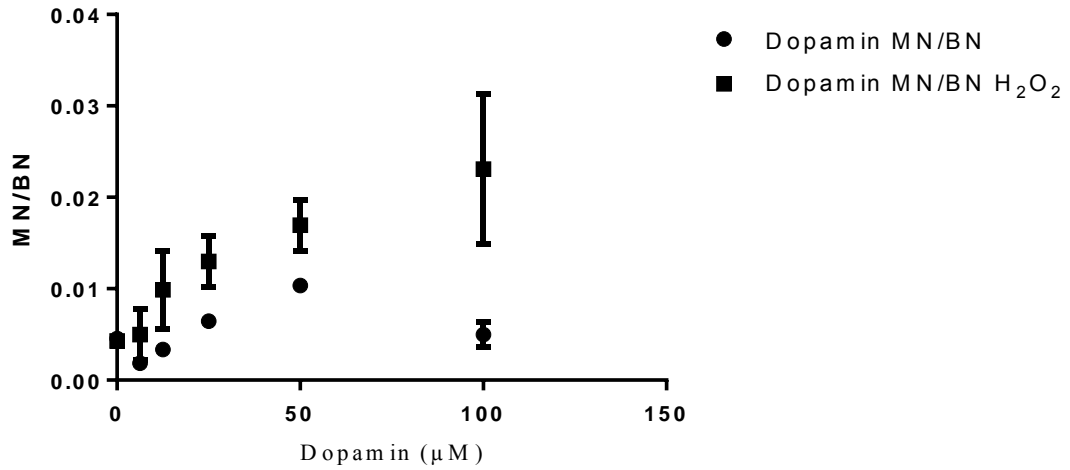
BN: binükleat hücre, MN: mikronükleus, MN/BN: binükleat hücre başına düşen mikronükleus sayısı, M1: 1 nükleuslu hücre, M2: 2 nükleuslu hücre, M3: 3 nükleuslu hücre, M4: 4 nükleuslu hücre, M5: 5 nükleuslu hücre, M6: 6 nükleuslu hücre, M7: 7 nükleuslu hücre, M8: 8 nükleuslu hücre Pİ: proliferatif indeks.

Tablo 4.2: Dopamin 2. Set doz-cevap tablosu.

No	Dopamin ( $\mu\text{M}$ )	BN hücre	MN	MN/BN	Çoklu nükleuslar								Pİ
					M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	
1	0	1009	5	0.0050	640	9	151	179	98	52	33	12	2.2785
2	6,25	1244	2	0.0016	596	16	95	110	71	21	9	2	2.0337
3	12,5	1041	3	0.0029	473	19	29	35	17	9	3	2	1.8403
4	25	1005	6	0.0060	399	16	32	41	22	6	3	1	1.8859
5	50	1018	10	0.0098	421	15	28	39	11	12	4	2	1.8697
6	100	1007	6	0.0060	429	12	33	27	19	13	4	1	1.8660
No	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Dopamin ( $\mu\text{M}$ )	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Pİ
7	0	947	4	0.0042	411	28	16	41	24	13	5	3	1.9019
8	6,25	1007	3	0.0030	368	25	19	35	19	9	3	1	1.8890
9	12,5	1015	7	0.0069	233	19	27	30	15	12	7	7	2.0176
10	25	1000	11	0.0110	403	17	21	22	17	16	8	1	1.8824
11	50	1002	15	0.0150	302	20	29	32	11	9	6	4	1.9392
12	100	311	9	0.0289	139	12	9	12	4	3	3	1	1.8765

7-12 numaralı flasklarda, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> her bir flask için 50  $\mu\text{M}$  dozunda uygulanmıştır.

BN: binükleat hücre, MN: mikronükleus, MN/BN: binükleat hücre başına düşen mikronükleus sayısı, M1: 1 nükleuslu hücre, M2: 2 nükleuslu hücre, M3: 3 nükleuslu hücre, M4: 4 nükleuslu hücre, M5: 5 nükleuslu hücre, M6: 6 nükleuslu hücre, M7: 7 nükleuslu hücre, M8: 8 nükleuslu hücre Pİ: proliferatif indeks.

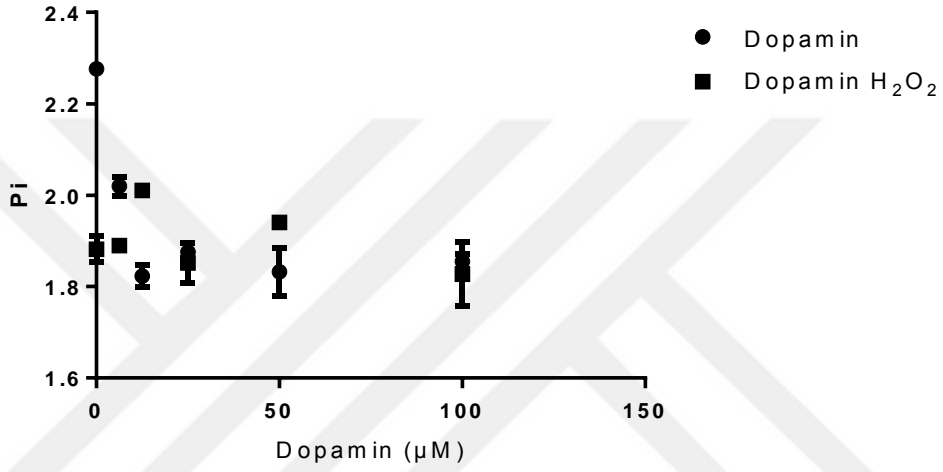


Şekil 4.1: Dopamin ve dopamin- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan hücrelerin MN/BN verisi.

Binükleat hücrelerden elde edilen MN sıklıkları ile Dopamin konsantrasyonları arasındaki ilişki Şekil 4.1'de gösterilmiştir. 2 farklı deneyin ortalamasını gösteren veri noktalarına regresyon analizi uygulanmıştır. Yalnızca dopamin verilen grupta, MN sıklıkları ile dopamin konsantrasyonları arasında bir ilişki gözlenmemiştir ( $r^2=0,14$ ). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan hücre



grubunda ise dopamin farklı dozları uygulandığında, MN sıklığı ile arasında önemli korelasyon bulunmaktadır ( $r^2=0,76$ ). Bu da dopaminin hücreler üzerinde toksik olmadığı ve  $H_2O_2$ 'nin artan konsantrasyonları ile gözlemlenen MN artışına da toksik etki göstermediğini düşündürmektedir. 2 eğrinin karşılaştırılmasında oldukça anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır ( $p<0,01$ ).



Şekil 4.2: Dopamin+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan hücrelerin Pİ verisi.

Şekil 4.2'de dopaminin tek başına ve  $H_2O_2$  ile verilmesi sonucu elde edilen proliferatif indekslere ait regresyon eğrileri gösterilmiştir. Dopamin konsantrasyonları arasındaki korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,28$ ). Dopamin ve  $H_2O_2$  verilen grupta, Pİ ile kombinasyon konsantrasyonları arasında korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,14$ ).

Dopamin dozlarının Pİ değerleri için yapılan F testi sonucu  $P < 0,05$  olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Dopaminin  $H_2O_2$  varlığında koruyucu etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 4.2’de verilen Serotonin grubuna ait verilerde, Serotonin tek başına uygulandığı kültürlerde elde edilen BN hücre sayıları 1000 üzerinde olmuştur. Çoklu nükleusların sayıları H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grubunda tedavi dozu arttıkça azalma göstermektedir.

**Tablo 4.3: Serotonin 1. Set doz-cevap tablosu.**

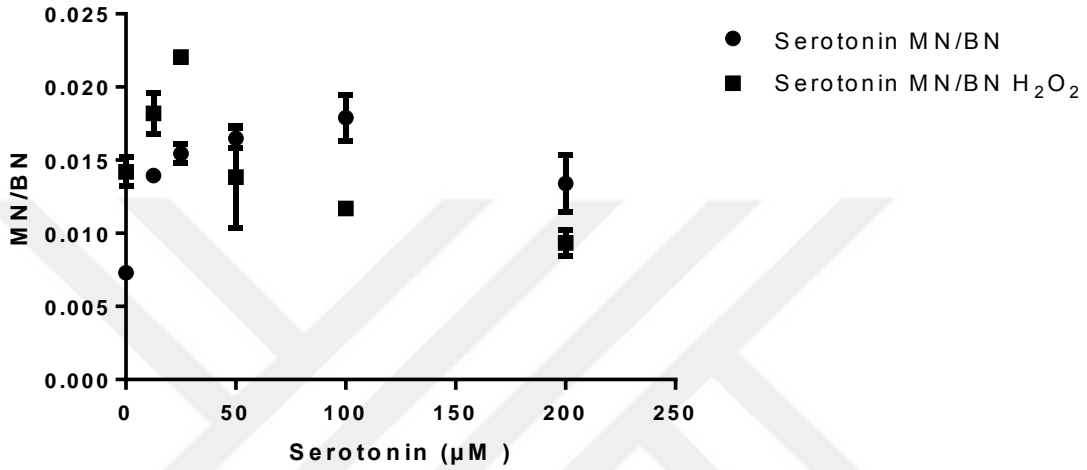
					Çoklu nükleuslar								
No	Serotonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Pİ
1	0	1050	8	0.0076	304	19	21	44	13	7	4	3	1.9386
2	12.5	1010	14	0.0139	302	31	24	43	22	9	7	3	1.9745
3	25	1005	16	0.0159	280	21	24	45	17	8	1	1	1.9486
4	50	1000	17	0.0170	190	27	23	55	23	15	1	2	2.0666
5	100	1002	19	0.0190	212	25	16	32	29	14	1	1	2.0165
6	200	1000	12	0.0120	194	31	24	26	25	9	3	2	2.0152
No	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Serotonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Pİ
7	0	335	5	0.0149	330	9	10	12	9	2	1	0	1.6384
8	12.5	290	5	0.0172	90	5	2	4	1	1	0	0	1.8142
9	25	320	7	0.0219	79	4	3	2	1	2	0	0	1.8516
10	50	350	4	0.0114	60	3	2	4	1	0	0	0	1.8881
11	100	610	7	0.0115	140	2	7	1	0	1	1	0	1.8399
12	200	459	4	0.0087	32	2	3	4	1	1	0	0	1.9721

BN; binükleat hücre, MN; mikronükleus, M1; 1 nükleuslu hücre, M2; 2 nükleuslu hücre, M3; 3 nükleuslu hücre, M4; 4 nükleuslu hücre, M5; 5 nükleuslu hücre, M6; 6 nükleuslu hücre, M7; 7 nükleuslu hücre, M8; 8 nükleuslu hücre Pİ; proliferatif indeks. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozu her birinde 50 µM dozunda uygulanmıştır

**Tablo 4.4: Serotonin 2. Set doz-cevap tablosu.**

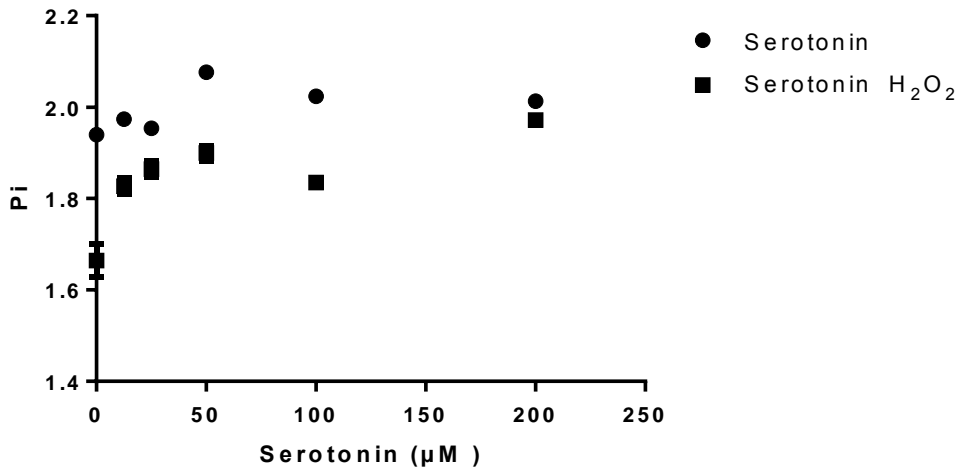
					Çoklu nükleuslar								
No	Serotonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Pİ
1	0	1000	7	0.0070	289	17	23	37	14	6	5	3	1.9405
2	12.5	1000	14	0.0140	309	28	27	41	19	11	7	4	1.9723
3	25	1002	15	0.0150	275	25	24	44	21	8	1	1	1.9593
4	50	1000	16	0.0160	182	26	25	58	22	13	4	3	2.0863
5	100	1009	17	0.0168	203	19	16	31	27	17	2	1	2.0302
6	200	1011	15	0.0148	179	22	19	28	23	7	3	1	2.0108
No	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + Serotonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Pİ
7	0	370	5	0.0135	314	11	9	14	8	4	2	0	1.6899
8	12.5	312	6	0.0192	87	7	5	4	1	1	0	0	1.8393
9	25	315	7	0.0222	81	6	3	3	3	3	0	0	1.8768
10	50	369	6	0.0163	58	3	3	4	1	0	1	0	1.9112
11	100	589	7	0.0119	160	3	6	3	0	2	2	0	1.8301
12	200	502	5	0.0100	39	4	3	5	2	1	0	0	1.9712

Binükleat hücrelerden elde edilen MN sıklıkları ile Serotonin konsantrasyonları arasındaki ilişki Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Yalnızca Serotonin verilen grupta, MN sıklıkları ile Serotonin konsantrasyonları arasında korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,07$ ).  $H_2O_2$  uygulanan hücre grubunda da Serotonin farklı dozları uygulandığında, MN sıklığı ile arasında korelasyon bulunmamaktadır ( $r^2=0,48$ ).



Şekil 4.3: Serotonin+ $H_2O_2$  uygulanan hücrelerin MN/BN verisi.

Serotonin grubunda, hem farklı dozlar halinde uygulanan serotonin tedavisi hem de hidrojen peroksit verilen grupta MN/BN oranının verilen dozlarla düşüş olduğu gözlemlenmiş 2 eğrinin karşılaştırılmasında anlamlı fark ortaya çıkmamıştır. ( $P= 0,2111$ )



**Şekil 4.4: Serotonin+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan hücrelerin Pİ verisi.**

Şekil 4.4'te verilen Serotonin grubunda serotonin dozları ve serotonin dozları+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verilerinin Pİ karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur (p<0,05). Serotoninin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında koruyucu etkisi olduğu ortaya çıkmıştır.

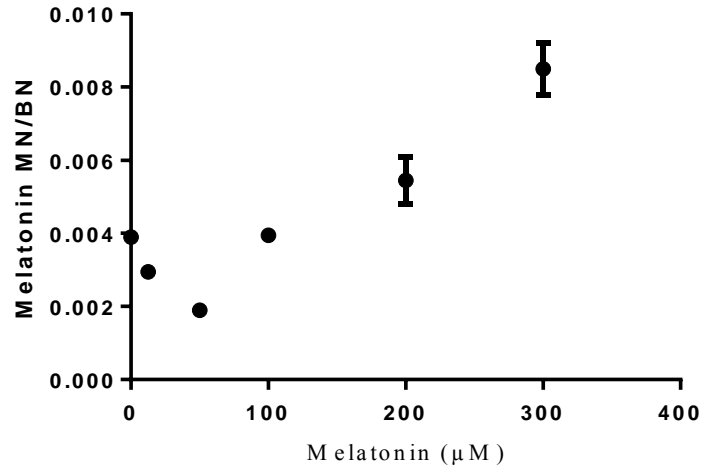
**Tablo 4.5: Melatonin 1. Set doz-cevap tablosu.**

No	Melatonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	Çoklu nükleuslar				Pİ
					M1	M2	M3	M4	
1	0	1010	4	0,0040	67	12	21	7	1,9714
2	12,5	1040	3	0,0029	59	14	33	7	1,9896
3	50	1109	2	0,0018	41	9	31	5	2,0000
4	100	1003	4	0,0040	61	11	29	9	1,9874
5	200	1009	5	0,0050	49	10	20	6	1,9845
6	300	1000	8	0,0080	78	18	17	11	1,9653

BN; binükleat hücre, MN; mikronükleus, M1; 1 nükleuslu hücre, M2; 2 nükleuslu hücre, M3; 3 nükleuslu hücre, M4; 4 nükleuslu hücre, Pİ; proliferatif indeks. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozu her birinde 50 µM dozunda uygulanmıştır

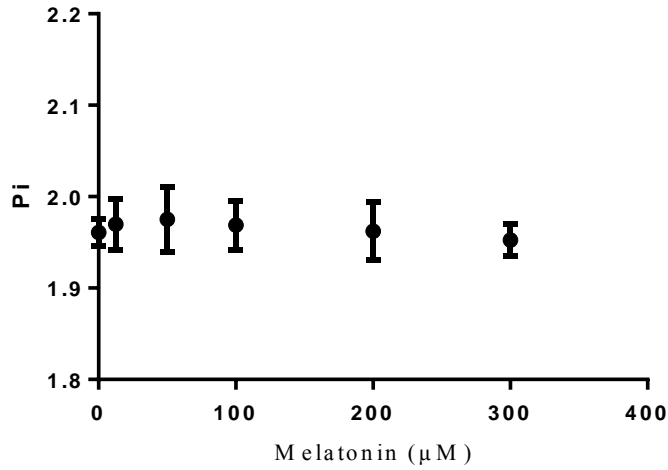
**Tablo 4.6: Melatonin 2. Set doz-cevap tablosu.**

No	Melatonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	Çoklu nükleuslar				Pİ
					M1	M2	M3	M4	
1	0	1042	4	0,0038	84	19	12	7	1,95
2	12,5	1000	3	0,0030	60	9	9	1	1,95
3	50	1019	2	0,0020	72	13	4	9	1,95
4	100	1013	4	0,0039	69	13	11	5	1,95
5	200	1022	6	0,0059	79	11	13	4	1,94
6	300	1000	9	0,0090	88	19	8	11	1,94



**Şekil 4.5: Melatonin uygulanan hücrelerin MN/BN verisi.**

BN hücrelerden elde edilen MN sıklıkları ile melatonin konsantrasyonlarındaki ilişki Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Yalnızca melatonin verilen grupta, MN sıklıkları ile melatonin konsantrasyonları arasında korelasyon gözlenmiştir ( $r^2=0,79$ ).



**Şekil 4.6: Melatonin uygulanan hücrelerin Pİ verisi.**

Melatonin konsantrasyonlarının karşılaştırılması sonucunda  $r^2=0,06$  hesaplanmış Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir.

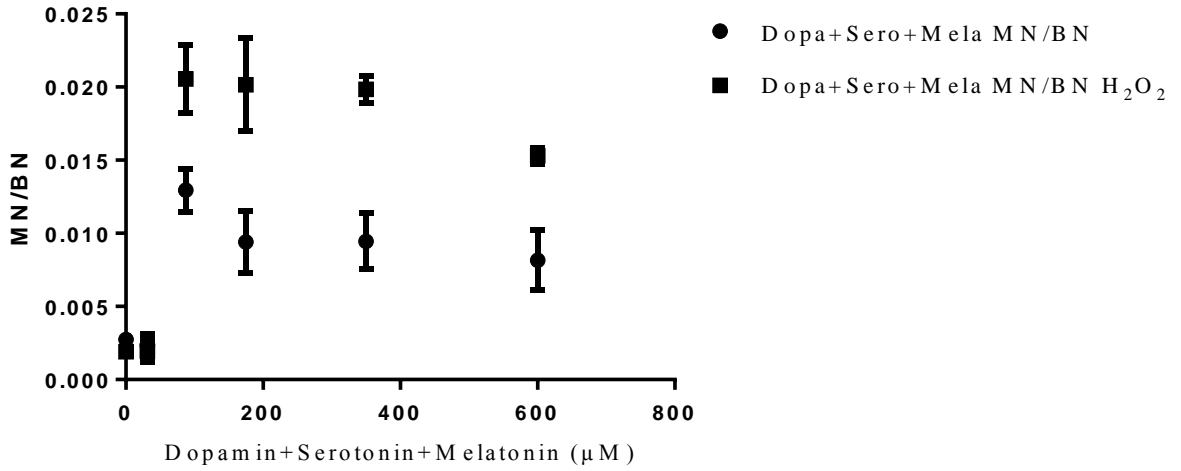
Dopamin+ Serotonin+ Melatonin kombinasyon tedavisinde kontrol grubunda 1000 BN sayımı yapıldı. 2 setten elde edilen hücrelerde MN/BN hesaplanmıştır.

**Tablo 4.7: Dopamin+Serotonin+Melatonin 1. Set doz-cevap tablosu.**

No	Dopa+Serotonin+Melatonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	Çoklu nükleuslar								Pİ
					M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	
1	0	1005	3	0.0030	630	26	112	50	25	24	5	1	1.8850
2	31.25	1102	2	0.0018	400	19	54	64	32	28	12	0	2.0292
3	87.5	1000	14	0.0140	295	11	19	18	9	5	0	0	1.8578
4	175	1010	8	0.0079	169	16	25	17	5	6	0	0	1.9431
5	350	1112	9	0.0081	188	12	21	18	4	4	1	0	1.9279
6	600	1050	7	0.0067	172	17	23	19	9	3	2	1	1.9568
No	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +Dopa+Serotonin+Melatonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	Pİ
7	0	1003	2	0.0020	502	29	108	48	27	21	4	1	1.9386
8	31.25	740	1	0.0014	377	21	61	61	31	29	9	0	2.0451
9	87.5	810	18	0.0222	289	9	28	19	7	8	3	1	1.8731
10	175	1207	27	0.0224	178	11	25	15	12	5	2	0	1.9608
11	350	1040	20	0.0192	162	16	22	17	9	4	1	0	1.9544
12	600	1007	15	0.0149	149	19	27	18	11	2	0	1	1.9684

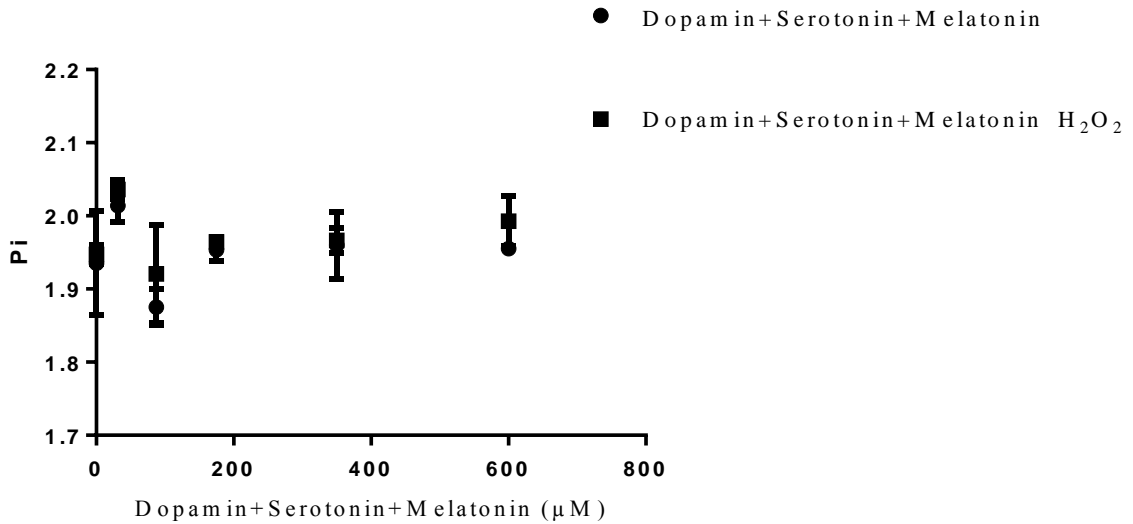
**Tablo 4.8: Dopamin+Serotonin+Melatonin 2. Set doz-cevap tablosu.**

No	Dopa+Serotonin+Melatonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	Çoklu nükleuslar							Pİ
					M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	
1	0	1189	3	0.0025	411	19	90	47	21	27	6	1.9856
2	31.25	1017	3	0.0029	380	12	45	55	30	22	9	1.9987
3	87.5	1006	12	0.0119	218	9	13	11	5	8	0	1.8929
4	175	1009	11	0.0109	125	13	20	15	5	3	1	1.9639
5	350	1110	12	0.0108	116	11	17	15	7	7	2	1.9922
6	600	1043	10	0.0096	150	14	19	14	8	4	1	1.9537
No	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> +Dopa+Serotonin+Melatonin (µM)	BN hücre	MN	MN/BN	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	Pİ
7	0	1103	2	0.0018	379	21	94	39	11	19	5	1.9563
8	31.25	789	2	0.0025	317	19	55	52	25	27	2	2.0272
9	87.5	845	16	0.0189	226	11	33	15	5	19	7	1.9681
10	175	1118	20	0.0179	169	15	29	10	13	3	5	1.9677
11	350	1026	21	0.0205	154	9	20	12	15	7	2	1.9783
12	600	1019	16	0.0157	133	17	22	17	19	9	1	2.0170



**Şekil 4.7: Dopamin+Serotonin+Melatonin+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan hücrelerin MN/BN verisi.**

Binükleat hücrelerden elde edilen MN sıklıkları ilişki Şekil 4.7’de gösterilmiştir ile Dopamin+ Serotonin+ Melatonin konsantrasyonları arasındaki korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,11$ ). Dopamin+ Serotonin+ Melatonin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verilen grupta, MN sıklıkları ile kombinasyon konsantrasyonları arasında korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,22$ ). 2 grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $P=0,07$ ).



**Şekil 4.8: Dopamin+Serotonin+Melatonin+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanan hücrelerin Pİ verisi.**

Dopamin+ Serotonin+ Melatonin konsantrasyonları arasındaki korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,004$ ). Dopamin+ Serotonin+ Melatonin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verilen grupta, Pİ ile kombinasyon konsantrasyonları arasında korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,01$ ).

Dopamin+Serotonin+Melatonin dozlarının ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Kombinasyon dozlarının PI değerleri için yapılan F testi ile karşılaştırılmasında aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır (P = 0,55).





## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dopamin in vitro ortamda konsantrasyonu arttıkça toksik etki gösterebilir; farklı literatür çalışmalarında gözlenen sonuçlara göre ise hücre Pİ'nin azalması hücrelerin nekroz ya da apoptozu seçmiş olabileceği yönünde düşünülebilir.

Bir monoamin katekolamin nörotransmitteri olan dopamin, günümüzde tümör büyümesinin önemli bir endojen düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. Dopamin, glioma tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır; bununla birlikte, dopaminin anti-tümör aktivitesinin altında yatan mekanizması henüz anlaşılmamıştır. Dopaminin glioma hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir [82].

Bu çalışmada elde edilen bulgularda dopamin kontrol doz gruplarında gözlenen MN/BN sıklıklarının dopamin konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı ortaya çıkarmıştır. Fakat Dopamin+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozları uygulanan preparatlarda doz arttıkça MN/BN sıklığının arttığı görülmüş ve bu durum istatistiksel olarak oldukça anlamlı kabul edilmiştir (p<0,01). Dopamin ve Dopamin+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dozlarının Pİ değerleri için yapılan F testi ile karşılaştırılmasında P<0,05 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Moreno-Smith ve ark. yaptığı çalışmada iyi huylu tümör dokularında düşük konsantrasyonlarda dopamin bulunduğunu ve artan dopamin seviyeleri ile tümör hücresi çoğalmasını engellediğini göstermiştir. Bu durum çalışmada elde ettiğimiz Pİ değeri ile tutarlılık göstermektedir. Moreno-Smith ve ark. Dopaminin anti-kanser tedavilerinin gelişimi açısından önemli olduğunu ortaya koymuşlardır. Moreno-Smith ve ark. dopaminin, kronik stres kaynaklı anjiyogenezi ve tümör büyümesini azalttığını doğruladılar. Dopamin tablet tedavisinin günümüzde parkinson, demans ve periferik arteriyel oklüziv hastalıklarda yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Çevresel hasarın etkilerine karşı, dopamin konsantrasyon miktarının artmasıyla koruyucu etkisinin daha ileri seviyelerde çalışılması gelecekte kanser tedavisinde dopamin ajanının kullanımının önemini ortaya koyabilir [81].

Stopper H., ve ark. 2009 'da yapmış olduğu TK6 hücre soyundaki dopaminin 100 mikromolarda proliferasyonu önemli ölçüde azalttığı yönünde bulgular tespit etmiştir. Dopamin tedavisinden sonra mikronukleus oluşumunun azaldığı görülmüştür. Kullanmış oldukları apoptoz frekans

sonuçlarında 100 mikromolar dozda TK6 hücresi için en yüksek dozda toksik olduğunu gözlemlemişlerdir. Tümör dokularında, iyi huylu dokulardan daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, artan dopamin seviyeleri ile tümör hücresi çoğalmasını engelleyebilmektedir [83].

Dopamin reseptörleri, otonomik hareket, duygu, hormonal düzenleme, dopamine bağlı immün etkiler ve tümör davranışı gibi tüm fizyolojik fonksiyonlara katılmaktadır. Dopamin reseptörlerinin, tümör hücresi ölümü, proliferasyon, istila ve göç gibi tümör davranışının düzenlenmesi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar; dopamin reseptörlerinin, apoptoz, otofaji ve tümör davranışını doğrudan etkileyemeyen, ancak tümör immünitesini aktive ederek tümör ilerlemesini sınırlandıran ferroptoz dahil, tümör hücresinin birkaç ölüm yolunu düzenlediği bilinmektedir [84].

Serotonin, çeşitli sinyal yollarına bağlı birçok reseptör ile etkileşime girer ve hem aktive edici hem de inhibe edici etki gösterebilir. Serotoninin çok çeşitli normal ve tümör hücreleri için mitojenik bir faktör olduğu gösterilmiştir. Serotonin agresif kanserlerde ve karsinoidlerde daha fazla 5-HT<sub>1</sub> ve 5-HT<sub>2</sub> reseptörleri ile büyüme uyarıcı bir etki göstermektedir. Bu durum serotonin molekülü için dezavantaj oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak düşük serotonin dozlarının, tümöre kan tedarikinin azalmasıyla tümör büyümesini inhibe edebilir, bu durum serotoninin tümör büyümesi üzerindeki rolünün konsantrasyona bağlı olduğunu göstermektedir. Bazı durumlarda, kanser hücresi büyümesini önlemek için serotonin reseptörlerinin antagonistleri, seçici serotonin taşıyıcı inhibitörleri ve serotonin sentezi inhibitörleri başarıyla kullanıldığını söyleyebiliriz. [85]

Bu çalışmada serotonin kontrol grubunda elde edilen bulgularda MN sıklıkları arasında korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,07$ ). Hem farklı dozlar halinde uygulanan serotonin tedavisi hem de hidrojen peroksit verilen grupta MN/BN oranının verilen dozlarla düşüş gösterdiği gözlemlenmiş ancak 4 eğerinin karşılaştırılmasında önemli olmayan fark ortaya çıkmıştır ( $P=0,2111$ ). Serotonin konsantrasyon miktarındaki değişim ile MN/BN sıklığı arasındaki ilişki *in vitro* koşullarda konsantrasyon değişimi ile orantılı olmadığı ortaya çıkmıştır. Serotonin grubunda serotonin dozları ve serotonin dozları+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> verilerinin Pİ karşılaştırılmasında

istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Serotoninin  $H_2O_2$  varlığında koruyucu etkisi olduğu ortaya çıkmıştır.

Mørch LS ve ark. yapmış olduğu çalışmada selektif serotonin geri alım inhibitörünün kullanımının epitelyal yumurtalık kanseri riskinin azalmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur [86]. Serotonin kullanımının potansiyel kemopreventif özelliğe sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Antipsikotik hastalıkların endikasyonlarında kullanılan serotonin molekülünün kanser tedavisinde kullanılması mümkündür. Bu görüş ilgili yeni çalışmalar ile desteklenebilir.

Serotonin, kolon kanseri allogreftlerinde MMP-12 ekspresyonunu etkileyerek tümör infiltrasyonu edici makrofajlar üretimini etkilemektedir. Serotonin kolon kanserinin önlenmesi ve tedavisi için yeni bir hedefi temsil edebilir, özellikle günümüzde çok sayıda güvenli ve etkili serotonin hedefleme ilacı klinik kullanımdadır [87].

Önceki çalışmalar, yüksek serotonin (5-HT) ve serotonin reseptör seviyelerinin onkojenik ilerlemeye katkıda bulunabileceğine dair kanıtlar sunsa da, bunun gerçekleştiği mekanizma hakkında çok az şey bilinmektedir. Verileri, serotonin reseptörü mRNA'larının ve proteinlerinin, çeşitli kanser tipleri arasında eksprese edildiğini ve tümör hücrelerinin serotonin uyarımının, AKT, CREB, GSK3 ve MAPK yollarının bileşenleri de dahil olmak üzere onkojenik sinyal araçlarını aktive ettiğini gösterdi. Sarkomdaki bilinen 5-HT reseptör sınıfının yedi alt sınıfının seçici farmakolojik inhibisyonu ve p53 DNA hasarı yolunun aktivasyonu sağlayarak, MAPK aktivitesinin baskılanması ve tümör hacminin birincil düzeyde azalması ile sonuçlanmıştır [88].

Epidemiyolojik çalışmalar, melatoninin farklı tümör tipleri üzerinde olası bir onkostatik özelliğini göstermiştir. Melatoninin çalışma mekanizmaları arasında, antioksidan aktivitesi ve melatonin reseptörleri olan MT1 ve MT2 apoptozunu uyarılması ile sağkalım önleyici sinyallerin düzenlenmesi bulunur. Melatonin ayrıca terapötik etkileri güçlendirmek ve kemoterapilerin veya radyasyonun yan etkilerini azaltmak yoluyla kanser terapilerinin adjuvanı olarak da kullanılabilir. Melatonin, birçok kanserin önlenmesinde özellikle meme kanseri, prostat kanseri, mide kanseri ve kolorektal kanser gibi birçok kanser tedavisi için iyi bir ajan olduğu bilinmektedir. [89]

Melatonin uygulanan 2 grup arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p=0,07$ ). Bu çalışmada  $H_2O_2$  verilerek oksidatif hasara bırakılan insan kökenli TK6 lenfoblast hücrelerinde melatonin koruyucu etkisinin olmadığı ortaya çıkmıştır.

Deneysel hayvan çalışmalarında, yüksek dozlarda melatoninin, retinal fotoreseptörlere (ganglion hücreleri, çubuklar ve koniler) ışığa bağlı olarak hasarı arttırdığını göstermiştir [90].

Wang Y. ve ark. yapmış olduğu meta-analiz sonuçlarına dayanarak, tümörlerin tedavisi için bir adjuvan olan MLT'nin, nörotoksisite, trombositopeni oranını azaltırken, kemoterapi sırasında hastalarının tümör remisyon oranını iyileştirdiği ve sağkalım oranını etkili bir şekilde arttırdığı gözlenmiştir [90].

Melatonin ayrıca hücre proliferasyonunu inhibe eder aynı zamanda COX-2 / PGE2, p300 / NF- $\kappa$ B'yi baskılayarak MDA-MB-361 meme kanseri hücrelerinde apoptozu indükler ve PI3K / Akt / Apaf-1 / kaspaz bağımlı apoptotik yolağın işaretlenmesi ve aktive edilmesini sağlar. Kanserle mücadele için yapılan çalışmalar melatoninin hücre çoğalmasını önemli ölçüde bastırdığını ve apoptozu indüklediğini göstermiştir [91].

Bağışıklık sistemi ile birlikte, melatonin kanser hücresi büyümesini engellemeye çalışır. Doğal öldürücü (NK) hücreleri, monositleri, lökositleri, interlökinleri ve interferon-gamayı uyarmanın yanı sıra sitokin sistemini ve sitotoksik aktiviteyi aktive ederek melatonin, kanser hücrelerine karşı bağışıklığın korunmasına yardımcı olur. Kan-beyin bariyerini (BBB) kolayca geçen bir hormon olarak melatonin, beyin sinir hücrelerinin oksidasyon bozukluklarına karşı koruyucu bir rol oynar, glutasyon ve antioksidan yolları aktive ederek kanserojenleri detoksifiye eder ve hücre DNA hasarını koruyarak onarımı sağlar. Melatonin, tümör teşvik eden gen TP53'ü baskılayan telomer uzunluğunu ve telomeraz aktivitesini azaltarak kanser hücrelerinin çoğalmasını önlemektedir. Bağışıklık sistemi ile birlikte melatonin, kanser hücresi büyümesini engellemeye çalışır. Melatonin, doğal öldürücü (NK) hücreleri, monositleri, lökositleri, interlökinleri ve interferon-gamayı uyarmanın yanı sıra sitokin sistemini ve sitotoksik aktiviteyi uyararak, kanser hücrelerine karşı bağışıklığın korunmasına yardımcı olur. Ayrıca, melatoninin, meme hücrelerinin hücre bölünmesini indükleyen östradiolün aşırı üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir [92].

Dopamin+ Serotonin+ Melatonin verilen grupta, MN sıklıkları ile kombinasyon konsantrasyonları arasında korelasyon gözlenmemiştir ( $r^2=0,1201$ ). Binukleat hücrelerden elde

edilen MN sıklıkları Dopamin+Serotonin+Melatonin dozları ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kombinasyon konsantrasyonunun F testi ile ölçümü yapılmış  $p < 0,59$  değeri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Daha önce böyle bir çalışmanın yapılmamış olması MN testiyle kombinasyon tedavisinde ve kombinasyon+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tedavisinde koruyucu etkisinin olmadığını ortaya çıkarmıştır.

Dopamin+Serotonin+Melatonin dozlarının ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Kombinasyon dozlarının Pi değerleri için yapılan F testi ile karşılaştırılmasında  $P = 0,1866$  olarak hesaplanmıştır. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. Dopamin+Serotonin+Melatonin kombinasyon tedavisi için farklı çalışma prosedürleri denenebilir.

Bu tez projesinde sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilen MN testinin iyi bir biyoindikatör belirteci olduğu ortaya çıkmıştır. Günümüzde ilaç toksisitesine bağlı olarak meydana gelen yan etkiler, vücutta sentezlenen ya da diyet yoluyla alınarak yan etki profili düşük olan antioksidan maddeler aracılığıyla koruyucu etkisi sayesinde öncelikli kullanımlar arasında yer alabilir. Çalışmada insan kökenli lenfoblast hücrelerine uygulanan dopamin serotonin, nörotransmitterlerin koruyucu etkisinin olduğu görülmüştür. MN testi genotoksik etkinin belirlenmesinde kullanılan güvenilir bir testtir. MN testi farmasötik ajanların sitogenetik etkilerinin gözlenmesi açısından güvenilir bir test olarak kullanılabilir. Bu çalışmada oksidatif stres koşullarında nörotransmitterlerin koruyucu etkileri gözlenmesi ilaç sanayide nörotransmitterlerin kanser tedavisinde kullanılabilmesi yönünde düşünülebilir.

## KAYNAKLAR

- [1] Zhang X., et al., Potential Roles of Peripheral Dopamine in Tumor Immunity. *Journal of Cancer* 2017; 8(15): 2966–2973.
- [2] Beckman KB and Ames BN. Oxidative decay of DNA. *Journal of Biological Chemistry* 1997 Aug 8;272(32):19633-6.
- [3] Marnett J. L., Oxyradicals and DNA damage, *Carcinogenesis*, Volume 21, Issue 3, March 2000, Pages 361–370.
- [4] Herken H. et al., *Düşünen Adam*; 1999, 12 (4):16-22
- [5] Yamini R., 2018 What to know about cancer? *Medical NewsToday* Last reviewed
- [6] Subbroto K.S. et. al., 2017 Correlation between Oxidative Stress, Nutrition and Cancer Initiation. *International Journal of Molecular Sciences* 2017, 18, 1544
- [7] Farmer P.B., et.al., 2003 Molecular epidemiology studies of carcinogenic environmental pollutants: Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental pollution on exogenous and oxidative DNA damage., *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, Volume 544, Issues 2–3, November 2003, Pages 397-402
- [8] Tritthart HA., 1996 In vitro test systems in cancer research., *ALTEX*. 1996;13(3):118-124.
- [9] Niu N., Wang L., 2015 In vitro human cell line models to predict clinical response to anticancer drugs, *Pharmacogenomics*. 16(3): 273–285.
- [10] Engin A, Altan N (2000) Effects of obstructive jaundice on the antioxidative capacity of human red blood cells. *Hematologia* 30(2), 91-96.
- [11] Engin A, Altan N, Işık E (2005) Erythrocyte glutathione levels in lithium-induced hypothyroidism. *Drugs In Research And Development* 6(1), 35-40.
- [12] Hasanoğlu E, Altan N, Sindel P, Ongun CÖ, Bali M, Altıntaş E (1994) The Relationship Between Erythrocyte Superoxide Dismutase Activity And Plasma Levels of Some Trace Elements (Al, Cu, Zn) of Dialysis Patients. *General Pharmacology* 25(1), 107-110.
- [13] Özenirler S, Tuncer C, Ongun CÖ, Altan N, Kandilci U (1994) Activity of Superoxide Dismutase in Erythrocyte of Nonalcoholic Chronic Liver Diseases. *General Pharmacology* 25(7), 1349-51.
- [14] Engin A, Bozkurt BS, Altan N, Memiş L, Bukan N (2003) Nitric oxide-mediated liver injury in presence of experimental bile duct obstruction. *World Journal of Surgery* 27(3), 253-5.
- [15] Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, Torun M, Şimşek B, Sepici V (2004) Oxidation of Uric Acid in Rheumatoid Arthritis: Is Allontoin a Marker of Oxidative Stress? *Free Radical Research* 38(6), 623-628.

- [16] Yardım-Akaydın S, Sepici A, Özkan Y, Şimşek B, Sepici V (2006) Evaluation of allontoin levels as a new marker of oxidative stress in Behçet's disease. *Scandinavian Journal of Rheumatology* 35(1), 61-64
- [17] Durackova, Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiological Research* 59: 459–469; 2010
- [18] Reuter S., et. al., 2010 Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology & Medicine* 49 (2010) 1603–1616
- [19] Noda N., and Wakasugi H., 2001 Cancer and Oxidative Stress. *Journal of Cardiovascular Medicine and Cardiology* 44(12): 535–539
- [20] Jabs, T. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals. *Biochemical pharmacology*. 57:231–245; 1999
- [21] Poyton, R. O.; Ball, K. A.; Castello, P. R. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 20:332–340; 2009.
- [22] Valko, M., 2006 Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* Volume 160, Issue 1
- [23] Fang, J.; Seki, T.; Maeda, H. Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 61:290–302; 2009.
- [24] Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002; 33:110-118.
- [25] Özcan O., et. al., Oxidative stress and its impacts on intracellular lipids, proteins and DNA. *Journal of Clinical and Experimental Investigations* 2015; 6 (3): 331-336
- [26] Babior BM (2000) Phagocytes and oxidative stress. *The American Journal of Medicine* 109(1):33-44
- [27] Eizirik DL, Flodström M, Karlsen AE, Welsh N (1996) The harmony of the spheres: inducible nitric oxide synthase and related genes in pancreatic  $\beta$  cells. *Diabetologia* 39(8), 875-890.
- [28] Navarro A, Boveris A. Rat brain and liver mitochondria develop oxidative stress and lose enzymatic activities on aging. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2004; 287:1244-1249
- [29] Ozben, T., 2007 Oxidative stress and apoptosis: *Impact on cancer therapy*, *Journal of Pharmaceutical Sciences* Volume 96, Issue 9, September 2007, Pages 2181-2196
- [30] Wiseman H, Halliwell B: Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *The Biochemical Journal*. 1996, 313: 17-29.

- [31] Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*. 2005;12:1161-1208.
- [32] Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*. 1991;43: 109-142
- [33] Jomova K, Valko M. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology* 2011;283:65-87.
- [34] Yin H, Xu L, Porter NA. Free radical lipid peroxidation: mechanisms and analysis. *Chemical reviews*. 2011;111:5944- 5972
- [35] www.dana.org Written by: Kayt Sukel Designed by: Elizabeth A. Weaver II
- [36] Stephen M: Stahl, Essential Psychopharmacology, *Cambridge University Press*, 5:154-197, 10: 373-380, 2000.
- [37] Suppiramaniam V., et al., Neurotransmitter Receptors, *Comprehensive Toxicology*, Second Edition, edited by Charlene A. McQueen, Elsevier, Oxford, 2010, Volume 13, Pages 101–128.
- [38] Fon E. A. et al., Molecular mechanisms of neurotransmitter release, 2001 John Wiley & Sons, Inc. *Muscle Nerve* 24: 581–601, 2001
- [39] G. P. Chrousos and P. W. Gold, “The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis,” *Journal of the American Medical Association*, vol. 267, no. 9, pp. 1244–1252, 1992.
- [40] T. E. Seeman, B. H. Singer, J. W. Rowe, R. I. Horwitz, and B. S. McEwen, “Price of adaptation—allostatic load and its health consequences: MacArthur studies of successful aging,” *Archives of Internal Medicine*, vol. 157, no. 19, pp. 2259–2268, 1997.
- [41] Yamazaki, S., et al., Quercetin-3-O-glucuronide inhibits noradrenaline-promoted invasion of MDA-MB-231 human breast cancer cells by blocking b2-adrenergic signaling. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 557 (2014) 18–27
- [42] B. S. McEwen and E. Stellar, “Stress and the individual. Mechanisms leading to disease,” *Archives of Internal Medicine*, vol. 153, no. 18, pp. 2093–2101, 1993
- [43] Jun P., et al., 2012, Adrenaline promotes cell proliferation and increases chemoresistance in colon cancer HT29 cells through induction of miR-155. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 428 (2012) 210–215
- [44] Cummins RO. Pharmacology II: Agents to Control Rate and Rhythm. *In Advanced Cardiovascular Life Support (ACLS)*, American Heart Association, 2003. 239-259.
- [45] L.A. Gaudette, C.A. Altmayer, M. Wysocki, R.N. Gao, Cancer incidence and mortality across Canada, *Health reports*. 10 (1998). 51–66(ENG); 55–72(FRE).



- [46] H.M. Schuller, B. Porter, A. Riechert, Beta-adrenergic modulation of NNK-induced lung carcinogenesis in hamsters, *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 126 (2000) 624–630.
- [47] T.A. Slotkin, J. Zhang, R. Dancel, S.J. Garcia, C. Willis, F.J. Seidler, Betaadrenoceptor signaling and its control of cell replication in MDA-MB-231 human breast cancer cells, *Breast Cancer Research and Treatment*. 60 (2000) 153–166
- [48] Nolan JP, Deakin CD, Saar J, Böttiger BW, Smith G. European resuscitation council guidelines for resuscitation 2005. Section 4. Adult advanced life support. *Resuscitation* 2005;67(Suppl 1):39-86.
- [49] Soar J, Deakin CD, Nolan JP, et al. European resuscitation council guidelines for resuscitation 2005. Section 7. Cardiac arrest in special circumstances. *Resuscitation* 2005;67(Suppl 1):135-70.
- [50] Seki, K., et al., 2018, Molecular mechanism of noradrenaline during the stress-induced major depressive disorder. *Neural Regeneration Research*.
- [51] O'Donnell J., et al., Norepinephrine: A Neuromodulator That Boosts the Function of Multiple Cell Types to Optimize CNS Performance. *Neurochemical Research*. 2012 Nov; 37(11): 2496–2512.
- [52] Wassall, R. D., et al., Noradrenaline Encyclopedia of Neuroscience 2009, Pages 1221-1230
- [53] Wang. D., et al., 2016, Antiferroptotic activity of non-oxidative dopamine. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2016) 1-6
- [54] R.E. Fleming, P. Ponka, Iron overload in human disease, *The New England Journal of Medicine*. 366 (2012) 348e359.
- [55] S. von Haehling, E.A. Jankowska, D.J. van Veldhuisen, P. Ponikowski, S.D. Anker, Iron deficiency and cardiovascular disease, *Nature reviews. Cardiology*. 12 (2015) 659e669
- [56] Chakroborty D., et al., Depleted Dopamine in Gastric Cancer Tissues: Dopamine Treatment Retards Growth of Gastric Cancer by Inhibiting Angiogenesis. *Clinical Cancer Research* 4349, Vol. 10, 4349–4356, July 1, 2004
- [57] Pathophysiology of L-Dopa Induced Dyskinesia — Changes in D1/D3 Receptors and Their Signaling Pathway-Scientific Figure on ResearchGate. Available from: [https://www.researchgate.net/figure/Synthesis-of-dopamine-from-L-DOPA-in-the-dopaminergic-nerve-terminals-DCAA-aromatic\\_fig2\\_272999388](https://www.researchgate.net/figure/Synthesis-of-dopamine-from-L-DOPA-in-the-dopaminergic-nerve-terminals-DCAA-aromatic_fig2_272999388) [accessed 18 Jun, 2019]
- [58] L.F. Mohammad-Zadeh, L. Moses, S.M. Gwaltney-Brant, Serotonin: a review, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 31 (2008) 187e199

- [59] Anniek K. D., et al., Measuring serotonin synthesis: from conventional methods to PET tracers and their (pre)clinical implications. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. (2011) 38:576–591
- [60] Sarrouilhe D., et al., Serotonin and Cancer: What Is the Link? *Current Molecular Medicine* 2015, 15, 62-77
- [61] Sarrouilhe D., and Mesnil M., 2018, Serotonin and human cancer: A critical view. *Biochimie*.
- [62] Zaminpira S., and Niknamian S., The Impact of Serotonin on the Cause and Treatment of Cancer. (2018) *International Journal of Cancer and Oncology*. 5(1): 1- 7
- [63] Thakur P., et al., Effects of exogenous oxytocin and atosiban antagonist on GABA in different region of brain. *IBRO Reports* Volume 6, June 2019, Pages 185-189
- [64] Rashmi D., et al., Chapter 13-  $\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA): Biosynthesis, Role, Commercial Production, and Applications. *Studies in Natural Products Chemistry* Volume 57, 2018, Pages 413-452.
- [65] Young Z. S., and Bordey A., GABA's Control of Stem and Cancer Cell Proliferation in Adult Neural and Peripheral Niches. *Physiology (Bethesda)*. 2009 Jun; 24: 171–185.
- [66] Karczmar AG. Brief presentation of the story and present status of studies of the vertebrate cholinergic system. *Neuropsychopharmacology* 1993;9: 181–199.
- [67] Uğur M., Sigara Bağımlılığı ve Kadın. Türkiye'de sık karşılaşılan psikiyatrik hastalıklar, *Sempozyum Dizisi* No:62 •Mart 2008 S:127-142
- [68] Yu H., et al., Acetylcholine acts through M3 muscarinic receptor to activate the EGFR signaling and promotes gastric cancer cell proliferation. *Scientific reports*. 2017; 7: 40802.
- [69] Özdemir O. and Özdemir P. G., Glutamat Sistemi ve Şizofreni. Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar-*Current Approaches in Psychiatry* 2016;8(4):394-405
- [70] Patricia J. McLaughlin, Ian S. Zagon, in Handbook of Biologically Active Peptides (Second Edition), 2013.
- [71] Sarkar D. K., et al., Regulation of cancer progression by  $\beta$ -endorphin neuron. *Cancer Research*. 2012 February 15; 72(4): 836–840
- [72] Zhang C. et al., Beta-endorphin Cell Therapy for Cancer Prevention. *Cancer Prevention Research*. (Phila). 2015 January; 8(1): 56–67
- [73] Slominski A. On the role of melatonin in skin physiology and pathology. *Endocrine*. 2005;27: 137–148
- [74] Cardinali DP. Basic aspects of melatonin action. *Sleep Medicine Reviews*. 1998;2: 175–190.

- [75] Ya Li, et. al., Melatonin for the prevention and treatment of cancer. *Oncotarget*. 2017 Jun 13; 8(24): 39896–39921
- [76] Reiter R. J., et al., Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2009; 44(4): 175–200.
- [77] Sandra C. et al., The role of melatonin in immuno-enhancement: potential application in cancer. *International Journal of Experimental Pathology*. (2006), 87, 81–87.
- [78] Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D, Tan DX, Burkhardt S. Free radical-mediated molecular damage. Mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system". *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2001;939: 200-15.
- [79] Fenech M., The in vitro micronucleus technique, *Mutation research*. 2000 Nov 20;455(1-2):81-95.
- [80] Şekeroğlu V., and Şekeroğlu Z. A., 2011, Micronucleus test for determining genotoxic damage, Review.
- [81] Yu-Long Lan, et al., Anti-cancer effects of dopamine in human glioma: involvement of mitochondrial apoptotic and anti-inflammatory pathways, *Oncotarget*. 2017 Oct 24; 8(51): 88488–88500.
- [82] Marik PE, Low-dose dopamine: a systematic review. *Intensive Care Medicine*. 2002 Jul;28(7):877-83. Epub 2002 May 31.
- [83] Wang X. et al., The Prospective Value of Dopamine Receptors on Bio-Behavior of Tumor, *Journal of Cancer* 2019; 10(7):1622-1632.
- [84] Sarrouilhe D., et al., Serotonin and cancer: what is the link? *Current Molecular Medicine*. 2015;15(1):62-77.
- [85] Mørch LS., et al., Contemporary Hormonal Contraception and the Risk of Breast Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2017 Dec 7;377(23):2228-2239
- [86] Nocito A., et al., Serotonin Regulates Macrophage-Mediated Angiogenesis in a Mouse Model of Colon Cancer Allografts, *Cancer Research* 2008; 68: (13). July 1, 2008.
- [87] Ballou Y., et al., 5-HT serotonin receptors modulate mitogenic signaling and impact tumor cell viability, *Molecular and Clinical Oncology*. 2018 Sep; 9(3): 243–254.
- [88] Ya Li, et al., Melatonin for the prevention and treatment of cancer, *Oncotarget*. 2017 Jun 13; 8(24): 39896–39921.
- [89] Wang Y., et al., Therapeutic strategies of melatonin in cancer patients: a systematic review and meta-analysis, *OncoTargets and Therapy*. 2018; 11: 7895–7908.
- [90] Wiechmann AF, O'Steen WK. Melatonin increases photoreceptor susceptibility to light-induced damage. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1992;33: 1894-902.

- [91] Wang J1, Xiao X, Zhang Y, Shi D, Chen W, Fu L, Liu L, Xie F, Kang T, Huang W, Deng W. Simultaneous modulation of COX-2, p300, Akt, and Apaf-1 signaling by melatonin to inhibit proliferation and induce apoptosis in breast cancer cells. *Journal Pineal Research* 2012;53:77-9.
- [92] Agrawal A, Darbari S, Rai TP, Kulkarni GT. Role of Melatonin in the Pathophysiology of Cancer. *International Journal of Disease*. 2016;7: 1-6.



## ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Gözde Kılıç
Doğum Yeri	Antalya
Doğum Tarihi	01.07.1991
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05434901771
E-Posta Adresi	gozde.kilic2@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Fen Fakültesi
Bölümü	Biyoloji Bölümü
Mezuniyet Yılı	31.07.2013

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Genel Biyoloji