

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**SERTRALİN VE KAPESİTABİN KOMBİNASYONUNUN MEME KANSERİ
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Serap ÖZKAYA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**SERTRALİN VE KAPESİTABİN KOMBİNASYONUNUN MEME KANSERİ
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Serap ÖZKAYA

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2021

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SERTRALİN VE KAPESİTABİN KOMBİNASYONUNUN MEME KANSERİ
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Serap ÖZKAYA
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2020-5019 proje numarası ile desteklenmiştir.**

HAZİRAN 2021

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SERTRALİN VE KAPESİTABİN KOMBİNASYONUNUN MEME KANSERİ
HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Serap ÖZKAYA
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 30/06/2021 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Esra AYDEMİR (Danışman)

Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

ÖZET

SERTRALİN VE KAPESİTABİN KOMBİNASYONUNUN MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Serap ÖZKAYA

Yüksek Lisans, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Esra AYDEMİR

Haziran 2021; 67 sayfa

Depresyon günümüzde yaygın olarak görünen ve kronik hastalıklarla eş zamanlı kendini gösteren duygu durum bozukluğudur. Kanser teşhisi konulan hastalarda depresyon yaygın olarak görülmektedir. Depresyon tedavisinin ihmal edilmesi durumunda kanser tedavisinde de başarı düşmektedir. Depresyon kadınlarda erkeklere oranla iki kat daha fazla görülmektedir. Kadınlarda meme kanseri en yaygın görülen kanser çeşididir. Bu anlamda meme kanseri olan kadınlarda depresyon tedavisi, kanser tedavisindeki başarı için oldukça önemlidir. Onkoloji birimlerinde kemoterapi gören kanser hastaları, eş zamanlı olarak antidepresan da kullanmaktadır. İlaçların aynı detoksifikasyon mekanizmasına sahip olmaları durumunda ilaç etkileşimleri muhtemeldir. Bu nedenle kombine kullanılan ilaçların doğru belirlenmesi oldukça önemlidir.

Sertralin ve kapasitabin kombinasyonunun, insan meme kanseri hücrelerindeki (MCF7 ve MDAMB-231) *in vitro* sitotoksik etkilerinin incelendiği literatürdeki ilk çalışmadır. 1000- 1.95 ng/mL dozlarda aralığında uygulanan kapasitabin tek başına MCF7 hücrelerinde uygulandığında; 6,12 ve 24 saatlik inkübasyon süreleri sonunda sitotoksik etki göstermezken, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 125 ve 62.5 ng/mL dozlarda sitotoksik etki göstermektedir. Aynı dozlarda MCF7 hücrelerinde uygulanan sertralin ise, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 62.5 ng/mL dışındaki hiçbir dozda ve inkübasyon süresinde sitotoksik etki göstermemektedir. Kapasitabin MDAMB-231 hücrelerinde hiçbir dozda sitotoksik etki göstermemekte fakat antiproliferatif etki göstermektedir. Sertralin ise; 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda 31.25 ve 3.9 ng/mL, 24 saatlik inkübasyonda ise 125 ng/mL dışındaki tüm dozlarda sitotoksik etki göstermektedir. Ayrıca sertralin MDAMB-231 hücrelerinde tüm dozlarda ve inkübasyon sürelerinde antiproliferatif etki göstermektedir. Sertralin/kapasitabin kombinasyonu, MDAMB-231 ve MCF7 hücrelerinde hücre canlılığını sırasıyla; %35.802 ve 23.043'e düşürmektedir. Sertralin/kapasitabin kombinasyonu ilaçların tek kullanımına kıyasla hücre canlılığını daha fazla azaltmaktadır.

Elde edilen veriler sonucu; MDAMB-231 ve MCF7 hücrelerinde kaspaz-3,-8,-9 ve DNA fragmentasyon miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemektedir. Tez kapsamında olmamasına rağmen Mtor proteininin miktarına bakılmış olup, ilaçların tek ve kombine olarak kullanımlarında, hem hücre ekstraktı hem de süpernatantında mtor miktarının baskılandığı belirlenmiştir. mTOR miktarı hücre süpernatantında, hücre ekstraktına kıyasla daha fazla baskılanmaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde hücre ekstraktındaki mTOR miktarı; kapasitabinin 100 ng/mL

konsantrasyonunda 0.717, sertralinin 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.757 ve kombinasyonlarında ise 0.525 kat baskılanmıştır. MDAMB-231 hücrelerinde hücre süpernetantındaki mTOR miktarı ise; kapasitabinin 100 ng/ml konsantrasyonunda 0.533, sertralinin 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.664 ve kombinasyonlarında ise 0.59 kat baskılanmıştır. MCF7 hücrelerinde hücre ekstraktındaki mTOR miktarı; kapasitabinin 10 ng/ml konsantrasyonunda 0.045, sertralinin 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.11 ve kombinasyonlarında ise 0.0612 kat baskılanmıştır. Son olarak, MCF7 hücrelerinde hücre süpernetantındaki mTOR miktarı; kapasitabinin 10 ng/mL konsantrasyonunda 0.8, sertralinin 50 ng/ml konsantrasyonunda 0.725 ve kombinasyonlarında ise 0.775 kat baskılanmıştır. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde; kanser hücrelerinde kaspaz-3,-8-9 ve DNA fragmentasyonunda değişiklik olmaması ve her iki hücre hattında da meydana gelen mTOR miktarındaki baskılanma, ölüm mekanizmasının otofaji olabileceğini düşündürmektedir.

ANAHTAR KELİMELEER: Antidepresan, Kapasitabin, Kombinasyon, Meme Kanseri, Sertralin, Sitotoksisite, SSRI.

JÜRİ: Doç. Dr. Esra AYDEMİR

Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE CYTOTOXIC EFFECTS OF SERTRALIN AND CAPECITABIN COMBINATION ON BREAST CANCER CELLS

Serap ÖZKAYA

MSc Thesis in Biology

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Esra AYDEMİR

June 2021; 67 page

Depression is defined as a common mood disorder that manifests itself simultaneously with chronic diseases. Especially in patients diagnosed with cancer, depression is commonly observed. In the case of neglectedness of depression treatment, the success of cancer treatment also decreases. According to gender-based studies, there are two-fold increase in depression prevalence in women than that of men. Besides this, breast cancer is the most common type of cancer in women. In this sense, the treatment of depression in women with breast cancer is very important for success in cancer treatment. Therefore, cancer patients undergoing chemotherapy in oncology units also use antidepressants simultaneously. At that point, it is very important to understand drug interactions used in combination correctly based on their detoxification mechanism similarity.

This thesis is the first study in the literature investigating the *in vitro* cytotoxic effects of the combination of sertraline and capecitabine in human breast cancer cell lines (MCF7 and MDAMB-231). In this study it is indicated that capecitabine administration alone at doses of 1000-1.95 ng/ml was showed no cytotoxic effect at the end of 6-, 12- and 24-hour incubation periods while there was cytotoxic effect at 125 and 62.5 ng/mL doses at the end of 48 hours incubation period in MCF7 cells. Sertraline administration to MCF7 cells at the same doses did not show any cytotoxic effect at any dose and incubation period except 62.5 ng/ml at the end of the 24-hour incubation period. On MDAMB-231 cells, capecitabine did not show any cytotoxic effect at any dose but showed antiproliferative effect whereas sertraline had cytotoxic effect at all doses except 31.25 and 3.9 ng/mL at the end of the 6-hour incubation period, and at 125 ng/mL in the 24-hour incubation period. In addition, sertraline has an antiproliferative effect on MDAMB-231 cells at all doses and incubation times. Sertraline/capecitabine combination reduced cell viability to 35.802% and 23.043% in MDAMB-231 and MCF7 cells, respectively. As a result, it is concluded that the sertraline/capecitabine combination reduced cell viability more than the separate use of drugs.

As a result of the obtained data; there is no statistically significant change in the amount of caspase-3,-8,-9 and DNA fragmentation in MDAMB-231 and MCF7 cells. Although it is not within the scope of the thesis, the amount of mtor protein was examined and it was determined that the amount of mtor was suppressed in both the cell extract and the supernatant when the drugs were used alone or in combination. It is found that the amount of mTOR is more suppressed in the cell supernatant than in the cell extract. The amount of mTOR was suppressed 0.717-fold at 100 ng/mL concentration of only

capecitabine treated 0.757 fold at 50 ng/mL concentration of only sertraline treated and 0.525 fold in combinations from MDAMB-231 cells in the cell extract while 0.533 fold, 0.664 fold and 0.59 fold in the supernatant, respectively. On the other hand, in MCF7 cells the amount of mTOR in the cell extract was suppressed 0.045 fold at 10 ng/mL concentration of only capecitabine treated cells, 0.11 fold at 50 ng/mL concentration of only sertraline treated cells and 0.0612 fold in combinations whereas in the supernatant of the same cell line mTOR was suppressed as 0.8 fold, 0.725 fold and 0.775 fold, respectively. In the light of all these results, the absence of change in caspase-3,-8-9 and DNA fragmentation in cancer cells and the suppression of mTOR in both cell lines suggest that the death mechanism may be autophagy.

KEYWORDS: Antidepressant, Breast cancer, Capecitabine, Combination, Cytotoxicity, Sertraline, SSRI.

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Esra AYDEMİR

Prof. Dr. Bülent KAYA

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

ÖNSÖZ

Depresyon tüm dünyada her yaş aralığında yaygın olarak görülen duygu durum bozukluğudur. Hastalarda çok fazla acı ve kaygı dolu bir sürece neden olan kanser, depresyonu da beraberinde getirmektedir. Kanser, diyabet, kalp rahatsızlığı gibi hastalıklara sahip olan hastalarda depresyon eş zamanlı olarak görülmekte ve tedavinin başarısını sınırlandırmaktadır. Kanser hastalarında en yaygın kullanılan tedavilerden olan kemoterapinin başarısı da çeşitli sebeplerden dolayı sınırlanmaktadır. Kanser tedavisinde başarıyı arttırmak ve süreyi kısaltmak için yeni ilaç kombinasyonlarının kullanımının belirlenmesi oldukça önemlidir. Onkoloji birimlerinde uzun ve yorucu bir tedavi süreci geçiren kanser hastalarına gerekli olduğu koşullarda kemoterapi ile birlikte depresyon tedavisi için antidepresan da verilmektedir. İlaçların birlikte kullanımı aynı detoksifikasyon mekanizmasına sahip olmaları halinde ilaç etkileşimine sebep olmakta ve bunun sonucu sinerjistik ya da antagonistik etkiler meydana gelebilmektedir. Doğru ilaç kombinasyonlarının hastalar üzerinde uygulanmasının ve istenilen ilaç etkileşimlerinin oluşmasının sağlanması, birçok hastalığın seyri için önemlidir. Birçok hastalığın tedavisinde yan etkilerin azaltılması ve tedavinin etkinliğinin artırılması gibi amaçlarla birden fazla ilacın aynı anda kullanımı söz konusu olabilir.

Bu tez kapsamında meme kanserinde yaygın kullanılan kapesitabin ile depresyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan sertralin kombinasyonunun MDA MB 231 ve MCF7 insan meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri, kaspaz-3,-8 ve -9 enzim aktiviteleri ve DNA fragmentasyon miktarları ölçülerek incelenmiştir. Elde edilen sonuçların kanser tedavileri için yapılan çalışmalara katkı sağlayacağını umut etmekteyiz.

Lisans eğitimimin ilk yıllarından itibaren gölgesini her daim hissettiğim, hayatımın en kritik anlarında doğru adımlar atmamı sağlayan, her zaman önüme ışık tutan, danışmanım ile çalışma fırsatını bana sağlayan saygı değer hocam Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN'a, hayatın önüme çıkarttığı tüm sevinç ve hüznlerde yanımda olan, sadece akademik olarak değil hayatımın her evresinde bana yol gösteren, çocuklarından ayırt etmeyen ve ne olursa olsun her daim arkamda olduğunu bildiğim sayın danışmanım Doç. Dr. Esra AYDEMİR'e ve öğrendiğim her şeyde büyük rolü olan, bana her zaman abla sevgisini hatırlatıp hissettiren sayın hocam Dr. Ayşegül Cansu KİLİT'e, tüm bu süreçte bana gösterdikleri destek için ekip arkadaşlarım Beyzanur BALKİS ve Zeliha YÜCEL'e ve Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nün öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Benden desteğini, bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen, birçok konuda engelleri aşmamı ve başarmamı sağlayan, bana benden daha çok inanıp güvenen canım arkadaşım Side Selin Su YİRMİBEŞOĞLU'na, aramızda mesafeler olsa da her daim yanımda hissettiğim, her kahrımı çeken ve dinleyen canım arkadaşım Medine DOĞAN'a, başka bir alanda eğitim görmesine rağmen deney sürecimde benimle birlikte laboratuvarında bulunan, bana yardımcı olmaktan hep keyif alan canım arkadaşım Deniz ULU'ya ve bana destek olan, sabır gösteren tüm dostlarıma, her ne olursa olsun hedeflerime giden yolda ilerlememi sağlayan, pes etmemem için ellerinden geleni yapan ve emeklerini asla ödeyemeyeceğim babam Durmuş ÖZKAYA'ya, annem Ümüsün ÖZKAYA'ya ve bana her zaman inanan canım ablam Hatice DELİBAŞI'na teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iv
ÖNSÖZ	vi
AKADEMİK BEYAN	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	4
2.1. Depresyon.....	4
2.1.1. Depresyon Tedavileri	5
2.1.2. Antidepresanlar	5
2.1.3. Sertralin	7
2.2. Kanser.....	9
2.2.1. Apoptoz	10
2.2.2. Meme kanseri	14
2.2.3. Kanser tedavileri	15
2.2.4. Kapesitabin.....	16
3. MATERYAL VE METOT.....	18
3.1. Hücreler ve Kültür koşulları.....	18
3.2. Hücrelere Kapesitabin, Sertralin ve Kombinasyonlarının Uygulanarak Sitotoksiste Etkinliklerinin Hesaplanması	18
3.3. Sitotoksiste Testleri	19
3.3.1. WST-1 hücre proliferasyon kiti.....	19
3.3.2. Tripan Mavisi	19
3.4. Apoptozis Testleri	20
3.4.1. Kaspaz-3 enzim miktarının araştırılması.....	20
3.4.2. Kaspaz-8 enzim miktarının araştırılması.....	20
3.4.3. Kaspaz-9 enzim miktarının araştırılması.....	20
3.4.4. DNA Fragmentasyonu.....	21
3.5. mTOR Miktarının Araştırılması.....	21
3.6. İstatistiksel Analiz	21
4. BULGULAR	22

4.1. MCF10A Hücrelerindeki Sitotoksik Etkiler	22
4.1.1. Kapasitabinin tek başına MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	22
4.1.2. Sertralinin tek başına MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	24
4.1.3. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	26
4.2. MDAMB-231 Hücrelerindeki Sitotoksik Etkiler	28
4.2.1. Kapasitabinin tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 Testi İle Gösterilmesi	29
4.2.1.1. Kapasitabin' in tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi	31
4.2.2. Sertralinin tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	32
4.2.2.1. Sertralinin tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi	34
4.2.3. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	35
4.2.3.1. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi	36
4.3. MCF7 Hücrelerindeki Sitotoksik Etkiler	37
4.3.1. Kapasitabinin tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	37
4.3.1.1. Kapasitabin' in tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi	39
4.3.2. Sertralinin tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	40
4.3.2.1. Sertralin' in tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi	42
4.3.3. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi	43
4.3.3.1. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi	44
4.4. Apoptozis Testleri	45
4.4.1. MDAMB-231 hücrelerinde apoptozis testleri	45
4.4.1.1. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi	45

4.4.1.2.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-8 elisa kiti ile gösterilmesi.....	46
4.4.1.3.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-9 elisa kiti ile gösterilmesi.....	46
4.4.1.4.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin dna fragmentasyon elisa kiti ile gösterilmesi.....	47
4.4.2. MCF7 hücrelerinde apoptozis testleri	48
4.4.2.1.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-3 elisa kiti ile gösterilmesi.....	48
4.4.2.2.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-8 elisa kiti ile gösterilmesi.....	48
4.4.2.3.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-9 elisa kiti ile gösterilmesi.....	49
4.4.2.4.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin DNA Fragmentasyon elisa kiti ile gösterilmesi.....	50
4.5. Otofaji Testleri	50
4.5.1. MDA otofaji testleri	51
4.5.1.1.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin mTOR elisa kiti ile gösterilmesi.....	51
4.5.2. MCF7 Otofaji Testleri.....	52
4.5.2.1.Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin mTOR elisa kiti ile gösterilmesi.....	53
5. TARTIŞMA.....	54
6. SONUÇLAR	60
7. KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Sertralin ve kapesitabin kombinasyonunun meme kanseri hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin incelenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

30/06/2021

Serap ÖZKAYA



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°C	: Santigrad Derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
ng	: Nanogram

Kısaltmalar

5'-DFCR	: 5'-Deoksi-S-Florositidin
5'-DFUR	: Sitidindeaminaz Enzimleri Aracılığıyla 5'Deoksi-D-Florouridin
5-FU	: Florourasil
5-HT	: Serotonin
A549	: Akciğer Adenokarsinoma Hücre Hattı
AIF	: Apoptoz İndükleyici Faktör
ATCC	: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu
ATG	: Otofaji İle Bağlantılı Proteinler
Bad	: Bcl-2 İlişkili Ölüm Proteini
BAK	: Bcl-2 Homolog Antagonist Öldürücü
Bax	: Bcl-2 İlişkili X Proteini
BCL-2	: B Hücre Lenfoma 2
Bcl-xL	: B Hücre Lenfoma-Extra Large
CAD	: Kaspazla Aktive Edilen Deoksiribonükleaz
CMA	: Şaperon Aracılı Otofaji

CO ²	: Karbondioksit
CYP	: Sitokrom P450
DED	: Ölüm Effektör Alanı
DISC	: Ölüm İndükleyici Sinyal Kompleksi
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksirio Nükleik Asit
DSM-5	: Mental Bozuklukların Tanısal Ve İstatiksel El Kitabı
DU145	: İnsan Karsinoma Prostat Kanseri
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EGFR	: Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ER	: Östrojen Reseptörü
FBS	: Fetal Bovin Serum
Gran B	: Granzim B
HepG2:	: İnsan Karaciğer Kanseri
HR +	: Tümörler Hormon Reseptör Pozitif
IC50	: % 50 İnhibisyon Konsantrasyonu
ICAD	: Kaspazla Aktive Edilen Deoksiribonükleaz İnhibitörü
MAO-I	: Monoamin Oksidaz İnhibitörleri
MCF-7	: Östrojen Reseptör Pozitif İnsan Meme Kanseri
MDAMB-231	: Östrojen Reseptör Negatif İnsan Meme Kanseri
MDB	: Majör Depresif Bozukluk
NARI	: Noradrenalin Geri Alım İnhibitörleri
NDI	: Noradrenalin ve Dopamin Geri Alım İnhibitörleri
P53	: 53 Kda'lık Protein
PBS	: Fosfat Tampon Tuzu
PC3	: İnsan Adenokarsinoma Prostat Kanseri
PR	: Progesteron Reseptörü

SARI	: Serotonin Antagonisti/Gerialım İnhibitörleri
SERT	: Seratonin Taşıyıcı Reseptörü
SNRI	: Serotonin Noradrenalin Gerialım İnhibitörleri
SSRI	: Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri
TCA	: Trisiklik Antidepresanlar
TNF	: Tümör Nekroz Faktörü
TRADD	: Tümör Nekroz Faktör İle İlişkili Ölüm Alanlarına
TSG	: Tümör Baskılayıcı Genler
WST	: Suda Çözünebilir Tetrazolyum Tuzu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Sertralin metabolizması	8
Şekil 2.2. Kanser hücrelerinin on temel özelliği.....	10
Şekil 2.3. Kaspaz ailesinin alt üyeleri.....	12
Şekil 2.4. Mitokondri aracılı içsel yolak.....	13
Şekil 2.5. Hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile tetiklenen dışsal yol.....	14
Şekil 3.1. Canlı hücrelerin miktarının hesaplandığı formül.....	19
Şekil 4.1. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksosite ve hücre canlılığına etkisi. .	22
Şekil 4.2. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksosite ve hücre canlılığına etkisi. .	23
Şekil 4.3. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksosite ve hücre canlılığına etkisi. .	23
Şekil 4.4. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksosite ve hücre canlılığına etkisi. .	24
Şekil 4.5. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.	24
Şekil 4.6. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.	25
Şekil 4.7. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.	25
Şekil 4.8. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksosite ve hücre canlılığına etkisi ..	26
Şekil 4.9. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.....	29
Şekil 4.10. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.....	30
Şekil 4.11. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.....	30
Şekil 4.12. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.....	31

Şekil 4.13. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde sitotoksikite ve hücre canlılığına etkisi	32
Şekil 4.14. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	33
Şekil 4.15. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde sitotoksikite ve hücre canlılığına etkisi	33
Şekil 4.16. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	34
Şekil 4.17. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksikite ve hücre canlılığına etkisi.	37
Şekil 4.18. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksik etkisi.....	38
Şekil 4.19. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	38
Şekil 4.20. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 48 saatlik inkübasyon sürelerinde MCF7 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi.....	39
Şekil 4.21. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksikite ve hücre canlılığına etkisi.	40
Şekil 4.22. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksik etkisi.....	41
Şekil 4.23. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksikite ve hücre canlılığına etkisi	41
Şekil 4.24. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenlen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi	42
Şekil 4.25. 100 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarı	45
Şekil 4.26. 100 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-8 miktarı	46
Şekil 4.27. 100 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-9 miktarı.	47

Şekil 4.28. 100 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki DNA fragmentasyon miktarı.	47
Şekil 4.29. 10 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarı ..	48
Şekil 4.30. 10 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki kaspaz-8 miktarı ..	49
Şekil 4.31. 10 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki kaspaz-9 miktarı ..	49
Şekil 4.32. 10 ng/ml kapasitabin, 50 ng/ml sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki DNA fragmentasyon miktarı	50
Şekil 4.33. Hücre ekstraktlarından elde edilen örneklerin 12 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı	51
Şekil 4.34. Hücre süpernatantından elde edilen örneklerin 12 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı	52
Şekil 4.35. Hücre ekstraktlarından elde edilen örneklerin 6 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı	53
Şekil 4.36 Hücre süpernetantından elde edilen örneklerin 6 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. DSM-5 tanı kriterleri	4
Çizelge 2.2. Antidepresanların etki mekanizmasına göre sınıflandırılması	6
Çizelge 4.1. Kapasitabin/sertralin kombinasyonunda kullanılan dozların isimlendirilmesi.....	27
Çizelge 4.2. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin yüzde canlılık çizelgesi.	27
Çizelge 4.3. Kapasitabinin MDAMB-231 hücrelerindeki 6,12,24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve Ortalamanın standart hatası (SEM) değerleri.	32
Çizelge 4.4. Sertralinin MDAMB-231 hücrelerindeki 6,12,24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri.....	35
Çizelge 4.5. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin yüzde canlılık çizelgesi.	35
Çizelge 4.6. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri.	37
Çizelge 4.7. Kapasitabinin MCF7 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri.....	40
Çizelge 4.8. Sertralinin MCF7 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri.....	43
Çizelge 4.9. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin yüzde canlılık çizelgesi.	43
Çizelge 4.10. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri.....	45

1. GİRİŞ

Depresyon, insanların yaşama zevkinin ve isteğinin azaldığı, derin üzüntü, çöküntü duyguları ile ortalaya çıkan, yaşam kalitesinin düşmesine sebep olan bir duygu durum bozukluğudur. Depresyonla birlikte kişinin kendini değersiz, umutsuz, güçsüz hissetme durumlarında da artış görülmektedir (Çelik 2016). Görüldüğü yaş aralığı açısından yetişkin bireylerde başlayıp yaşlılıkta devam eden yaygın bir hastalıktır. Dünya genelinde depresyon en sık 45-55 yaşlarında görülmektedir. Günümüzde, depresyon kronik bir hastalık olarak görülmekte ve diğer hastalıklarla da ilişkilendirilmektedir (Yohannes vd. 2010). Depresyon sağlıklı bireylere kıyasla kronik hastalıkları bulunan bireylerde daha yaygın olarak görülmektedir (Arslantafi 2011).

Kanser, genomdaki birçok mutasyonun birikimi ile ortaya çıkan sistemik bir hastalıktır (Blagosklonny vd. 2005; Loeb ve Anderson 2003). Hanahan ve Weinberg (2000) derlemesine göre kanser hücrelerinin büyüme sinyallerine ihtiyaç duymama, büyümeyi inhibe edecek sinyallere duyarsızlık, metastaz ve invazyon, anjiyogenez, apoptozdan kaçma, sınırsız replikasyon olmak üzere altı özelliği bulunmaktadır (Hanahan ve Weinberg 2000). Bu farklı özelliklere sahip olması kanser hücrelerinin hayatta kalma olasılığını arttırmakta ve kansere karşı tedavide başarıyı sınırlandırmaktadır.

Kanser teşhisi, diğer hastalıklara oranla hastalarda daha fazla depresyona yol açmaktadır. Ayrıca depresyon, kanser hastalarının yaklaşık %10'dan fazlasını etkileyen eş zamanlı bir hastalıktır (Smith vd. 2015). Depresyon, düşük yaşam kalitesine ve kanser hastalarında yüksek ölüm oranlarına neden olmaktadır (Pinquart ve Duberstein 2010). Kanser hastalarında tedavi amacıyla kullanılan klasik yöntemlerden biri olan kemoterapi, özgül olarak çoğalmaya meyilli hücrelere karşı seçici olarak toksik etkisi bulunan biyolojik ve/veya kimyasal ajanlar kullanılarak gerçekleştirilen tedavi yöntemidir (Çapar vd. 2010). Günümüzde kanser tedavilerinde yaygın kullanılan kemoterapötik bir ajan olan kapesitabin, oral olarak uygulanan floropirimidin karbamattır. Kapesitabin urasil ve timin bazlarını içermekte ve kemoterapötik ilaçların sınıfı olan antimetabolitler içerisinde yer almaktadır. Hedefe özgü bir antikanser ajan olan kapesitabin, 3 aşamalı olarak detoksifiye edilmekte ve fluorourasil (5-FU)'e dönüşmektedir. 5-FU, solid tümörlerin tedavisinde en çok kullanılan kemoterapötik ajanlardan biridir. Kapesitabinin metabolitleri timidilat sentazını inhibe ederek ve nükleotit benzeri davranarak RNA'ya dâhil olarak hücre hasarına neden olmaktadır. Meme ve kolorektal kanser tedavileri için kullanımı onaylanmıştır. Ayrıca özofagus ve pankreas kanserleri gibi çeşitli 3. evre tümörlere karşı etkileri araştırılmaktadır (Alexandre vd. 2007; Aprile vd. 2009; Baskın ve Çalıbaşı 2011b; Caraci vd. 2011).

Depresyonun sağlıklı bir şekilde tedavi edilmesi için akut, sürdürme ve idame aşamalarına ve bu aşamaların tamamlanmasına dikkat edilmesi gerekmektedir. Depresyon; ilaç kullanımı, psikoterapi ve konvülsif tedavi gibi birçok farklı yöntemle tedavi edilmektedir. Depresyon hastalarında ilaç tedavisi için antidepresan, antipsikotik ve antiepileptikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Tedavi yöntemleri hastalığın seyrine göre değişmekte olup, birkaç ilacın birlikte kullanımı da tercih edilmektedir (Mete ve Elbi 2008).

Antidepresanlar; majör depresyon, anksiyete, obsesif kompulsif bozukluk gibi hastalıkların tedavilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Antidepresan ilaçlar, temelde

birinci nesil ve ikinci nesil antidepresanlar olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır. Günümüzde antidepresanlar etki mekanizmalarına göre monoaminerjik antidepresanlar, monoaminerjik olmayan antidepresanlar ve araştırma-geliştirmede kullanılan ilaçlar olmak üzere üç ana sınıfa ayrılmaktadır (Alvano ve Zieher 2020). Toplumda en yaygın kullanılan antidepresan sınıfı seçici serotonin geri alım inhibitörleridir (SSRI)(Matuo vd. 2009; Rodin vd. 2007).

SSRI grubu ilaçlar içerisinde Fluoksetin, Fluvoksamin, Paroksetin, Sertralin, Sitalopram ve Escitalopram bulunmaktadır. SSRI grubu antidepresanlar, aktiviteleri ve yan etkileri bakımından çok benzerlik göstermesine rağmen kimyasal yapıları, metabolizmaları, farmakokinetik özellikleri ve sitokrom p450 (CYP) ile etkileşimleri bakımından büyük farklılıklar göstermektedir. İlaç metabolizmasında görev alan başlıca CYP enzimleri arasında CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 ve CYP3A4 bulunmaktadır (Matuo vd. 2009).

Seçici serotonin geri alım inhibitörü antidepresanlar arasında yer alan sertralin, naftilamin türevi iki kiral merkezi bulunan bir ilaçtır (Mandrioli vd. 2012). Sertralin, trisiklik antidepresanlara ve diğer serotonin geri alım inhibitörlerine göre daha tolere edilebilir özelliktedir (Hiemke ve Hartter 2000). Serotonin (5-HT)'nin presinaptik nörona geri alınımını bloke ederek, sinaps aralığında postsinaptik reseptörlere bağlanacak nörotransmitter miktarını ve sinaptik geçişi artırır. Sertralin, karaciğerde sitokrom p450 izoformları (CYP2D6, CYP2C9, CYP2B6, CYP2C19 ve CYP3A4) ile metabolize edilmektedir (Yanık vd. 2011). Sertralinin biyotransformasyonu sonucu başta ana metabolit olan N-desmetil-sertralin olmak üzere N-desmetil-sertralin-keeton, karbamik asit ve N-hidroksi-sertralin metabolitleri oluşmaktadır (Mandrioli vd. 2012).

Farmakokinetik etkileşimler, kullanılan herhangi bir ilacın eş zamanlı olarak kullanılan diğer bir ilacın emilimi, dağılımı ve atılımı üzerine etkiler yaratmasıdır. Antidepresanlar ve anti kanser ilaçlar arasında farmakokinetik etkileşimler olduğu bilinmektedir. Antidepresan ve anti kanser ilaçlarının birlikte kullanılması durumunda bu etkileşimler dikkate alınmalı ve birlikte kullanımları sonucu yan etki yaratabilecek ya da tedavi etkinliğini düşürebilecek etkileşimlerden kaçınılmalıdır. Buna karşın, doğru belirlenen antidepresan ve anti kanser ilaçların birlikte kullanımının, sinerjistik etkiler yaratarak, kanser tedavisinin başarısını olumlu yönde etkileyebileceği de düşünülmektedir (Matuo vd. 2009).

Son yıllarda hastanelerin onkoloji birimlerinde tedavi gören kanser hastalarında antidepresanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Antidepresanlar kemoterapötik ilaçlar gibi karaciğerde sitokromlar tarafından detoksifiye edilmektedir. Antidepresanlar ve anti kanser ilaçlarının benzer detoksifikasyon mekanizmaları nedeniyle iki ilaç arasında ilaç etkileşimleri gerçekleşebilmektedir. Yapılan literatür çalışmalarında antidepresanlar ile anti kanser ilaçlarının birlikte kullanımı sonucu farklı kanser hücrelerinde sinerjistik etkilerin meydana geldiği işaret edilmektedir. Antidepresan ve anti kanser ilaçlarının kombinasyonlarının kanser hücreleri üzerindeki etkileri ve bu etkilerin mekanizmaları yeterince bilinmemektedir.

Yapılması hedeflenen bu tez çalışması kapsamında, meme kanserinin tedavisinde sıklıkla kullanılan kapesitabin ile seçici serotonin geri alım inhibitörü olan Sertralinin

birlikte kullanımının MDAMB231, MCF-7 meme kanserleri ile MCF 10-A meme epitel hücreleri üzerindeki olası sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Depresyon

Depresyon; duygusal olarak çökme, üzgün hissetme, kişinin işlevsel ve yaşamsal faaliyetlerinde azalma gibi durumları ifade etmek için kullanılmaktadır. Depresyon sözcüğünün kelime kökeni olan “Depress”, Latince bastırmak anlamına gelen, “Depressus” sözcüğünden gelmektedir. Depresyonun yaygın sonucu olarak birey günlük yaşantısından, etkinliklerinden ve daha önceden keyif aldığı durumlardan eskisi gibi zevk almaz. Ayrıca, bireyin önceden keyifle yapmış olduğu faaliyetlere karşı ilgisinin azalması veya kaybolması da görülebilmektedir. Gerçekleşen tüm bu süreçler ile birlikte birey kendisini karamsar ve çökmüş ruh hali içerisinde sürekli üzüntülü, hem mental hem de fiziksel olarak enerjisiz hissetmektedir. Depresyon, psikomotor aktivitelerde gerileme ve düşüncelerdeki sınırlılık, bilişsel ve işlevsel yavaşlama ile kendini göstermektedir. Dünya genelinde en yaygın görülen duygu durum bozukluğu olan majör depresif bozukluk en çok 40-50 yaşları arasında ve kadınlarda erkeklere oranla iki kat daha fazla görülmektedir. Türkiye’de görülme sıklığı yaklaşık olarak %10-20 arasında değişmektedir (Çelik 2016).

Majör depresif bozukluk (MDB); Amerikan Psikiyatri Birliğinin belirlemiş olduğu Mental Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı DSM-5 kriterlerine göre değerlendirilmekte ve tanı konulmaktadır (Çizelge 1) (Eser 2019).

Çizelge 2.1. DSM-5 tanı kriterleri (Eser 2019’dan uyarlanmıştır)

DSM-5 TANI KRİTERLERİ
Günler boyunca görülen depresif ve üzüntülü duygu durumu
Sosyal faaliyetlerden keyif almama (anhedoni) ve etkinliklere katılma isteğinde azalma
Uyku kalitesinde düşüş ve düzensizlikler
Yeme alışkanlıklarında değişiklik ve düzensizlikler
Konsantrasyon problemi
Değersiz, yorgun ve suçlu hissetme
Psikomotor davranış bozuklukları (ajitasyon) ve retardasyon
Tekrar eden ölüm düşünceleri ve intihar girişimleri

Depresyonun beynin fonksiyonel nöroanatomisindeki değişikliklerinden kaynaklandığı bilinse de majör depresyonun altında yatan patofizyolojik nedenler henüz net değildir. Serotonin (5-HT), dopamin ve norepinefrin gibi monoaminerjik nörotransmitterlerin aktivitesindeki bozukluklar, depresyonun patofizyolojisinde kilit rol oynamaktadır (Artigas vd. 2013). 5-HT; hafıza, ruh hali, duygular, uyanıklık, uyku, iştah, beyin gelişimi, sirkadiyen ritim, termoregülasyon, cinsel dürtü, korku, motor fonksiyon ve nöroendokrin sekresyonu gibi birçok fizyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. 5-HT; depresyon, Parkinson hastalığı, şizofreni, anksiyete, bağımlılık, kronik stres gibi psikiyatrik ve nörolojik bozuklukların patogeneğinde de rol oynamaktadır (Sarrouilhe ve Mesnil 2019).

2.1.1. Depresyon Tedavileri

Depresyon tanısı konulduktan sonra kişinin günlük hayat içerisindeki faaliyetlerine geri dönebilmesi için tedavi edilmesi gerekmektedir. Depresyon tedavisi için tercih edilen yöntemler, hastaya göre değişiklik göstermektedir. Depresyon hastalarına psikoterapi, ilaç tedavileri, elektro konvülsif tedavi ve ışık tedavisi gibi farklı tedaviler uygulanmaktadır. Tedavi süreci; akut dönem, sürdürme dönemi ve idame dönemi olmak üzere 3 aşamada gerçekleşmektedir. Tedavi süresince akut dönemde kişinin iyi hissetme durumunun sağlanması, sürdürme döneminde iyi hissetme durumunun devam etmesinin sağlanması, idame döneminde ise depresyonun yeniden ortaya çıkmasının engellenmesi amaçlanmaktadır (Mete ve Elbi 2008).

İlaç tedavilerinde tedavinin başarısı için öncelikle hasta ile ilaç uyumu konusunda konuşulmalıdır. Hastalarda kullanılan ilaçların etki gösterme sürelerinde değişiklikler olup ilk önerilen dozlarda iyileşme görülemeyebilir. Bunlara ek olarak hastalarda hafif düzeyde yan etkilerin görülme ihtimali olsa da ilaçlara karşı bağımlılık oluşma durumu söz konusu değildir (Karamustafalıoğlu ve Yumrukçal 2011). İlaç tedavisiyle birlikte gerekirse psikoterapötik destek sağlamak, hastalığın seyrinde olumlu etki yaratmasıyla birlikte intihar riskini de azaltmaktadır. İlaç tedavilerinde ilk sırada antidepresanlar yer almaktadır. Depresyon tedavilerinde, daha güvenli ve tolerans aralığı yüksek olması nedeniyle seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) ve serotonin noradrenalin geri alım inhibitörleri (SNRI) yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda monoamin oksidaz inhibitörleri (MAO-I) ve trisiklik antidepresanlar (TCA), SSRI ve SNRI grubu ilaçlara kıyasla, daha az güvenilir olduğu için, çok fazla tercih edilmemektedir. Majör depresyon gösteren hastaların tedavisinde ise hastalarda tedaviye direnç oluşması durumunda antipsikotik ve antiepileptik ilaçlar da tercih edilmektedir. (Karamustafalıoğlu ve Yumrukçal 2011). Kronik hastalarda depresyon tedavisi sırasında kullanılan birçok ilacın etkileşimi sonucu kronik hastalığın gidişatında olumsuzlukların meydana gelme riski bulunmaktadır. Bu nedenle ilaç etkileşimlerine dikkat etmek gerekmektedir. Ayrıca bazı hastalarda ilaç tedavisine yanıt görülmediği için elektro konvülsif tedavi (EKT) uygulanmaktadır. EKT’de önlem alınmış bir ortamda hastaya grand mal epileptik nöbet geçirilmektedir. Son zamanlarda kısa süreli anestezi altında yapılan EKT gerekli koşullar sağlandığında daha güvenli bir uygulama olarak görülse de adrenalin, kortizol ve büyüme hormonu salınmasını arttırmakta ve insüline karşı antagonist etki göstermektedir (Mete ve Elbi 2008).

Birçok farklı yöntemle gerçekleştirilen depresyon tedavileri doktor kontrolü ile tamamlanmalı, yarıda bırakılmamalı ve idame dönemi gerçekleştirilerek ile tekrarı engellenmelidir.

2.1.2. Antidepresanlar

Antidepresanlar, majör depresyon tedavisinde hastalara verilmektedir. Temelde antidepresanlar birinci nesil ve ikinci nesil olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birinci nesil antidepresanlar içinde, monoamin oksidaz inhibitörleri (MAO-I) ve trisiklik antidepresanlar (TCA) yer almaktadır. İkinci nesil (yeni) antidepresanlar ise seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörleri (SNRI), noradrenalin geri alım inhibitörleri (NARI), noradrenerjik ve spesifik geri alım inhibitörleri (NASSA), serotonin antagonisti/geri alım inhibitörleri (SARI), noradrenalin

ve dopamin geri alım inhibitörleri (NDI) ve melatonerjik ajanlardır (Rodin vd. 2007; Caraci vd. 2011). Alvano ve Zieher'in 2020 yılında yayınlamış olduğu çalışmada ise antidepresanlar etki mekanizmalarına göre 3 ana sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar; monoaminerjik antidepresanlar, monoaminerjik olmayan antidepresanlar ve araştırma ve geliştirmede kullanılan ilaçlardır. Mono aminerjik antidepresanlar da kendi içlerinde etki mekanizmalarına göre dört büyük alt gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.1.) (Alvano ve Zieher 2020).

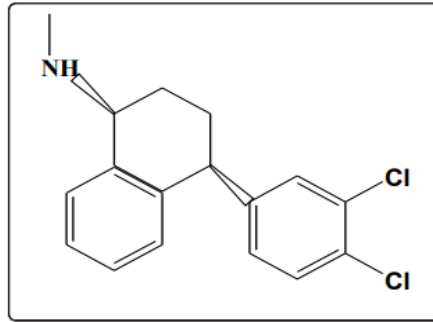
Çizelge 2.2. Antidepresanların etki mekanizmasına göre sınıflandırılması (Alcano ve Zieher 2020'den uyarlanmıştır)

ANTİDEPRESANLARIN ETKİ MEKANİZMASINA GÖRE SINIFLANDIRILMASI			
Sınıf A: Monoaminerjik Modulatörler	Sınıf A1: Monoamin oksidaz İnhibitörleri (MAOI)	Sınıf A1.a: Geri Dönüşümsüz Seçici Olmayan Antidepresanlar	Tranylcypromine, Phenelzine, Isocarboxazid
		Sınıf A1.b: Geri Dönüşümsüz Seçici Antidepresanlar	MAO-B: Selegiline
		Sınıf A1.c: Geri Dönüşümlü Seçici Antidepresanlar	MAO-A: Moclobemide
	Sınıf A2: Nöronal Gerialım İnhibitörleri	Sınıf A2.a: Nispeten Seçici	Seçici Serotonin Gerialım İnhibitörleri (SSRI): Fluoksetin, Sertraline, Paroksetin, Citalopram, Escitalopram, Fluvoxamine
		Sınıf A2.a1: Serotonerjik	
		Sınıf A2.b: Serotonerjik ve Noradrenerjik	Serotonin-Noradrenalin Gerialım İnhibitörleri (SNRI): Venlafaksin, Desvenlafaksin, Duloksetin, Milnacipran, Levomilnacipran
		Sınıf A2.c: Noradrenerjik ve Dopaminerjik	Noradrenalin ve Dopamin Gerialım İnhibitörleri (NDRI): Bupropion
	Sınıf A3: Alfa-2 (a2) Reseptör Antagonistleri		Noradrenerjik ve Spesifik Serotonerjik Antidepresanlar (NaSSA): Mirtazapine
	Sınıf A4: Multimodallar	Sınıf A4.a: Serotonerjik	VOrtalamaioxetine, Vilazodone, Trazodone
		Sınıf A4.b: Noradrenerjik	Mianserine, Maprotiline
		Sınıf A4.c: Serotonerjik ve Noradrenerjik	İmipramine, Clorimipramine, Amitriptiline, Desipramine, NOrtalamariptiline
Sınıf B: Monoaminerjik Olmayan Modulatörler	Melatonin Reseptörleri (MT1, MT2) Antagonistleri		Agomelatine
Sınıf C: Araştırma ve Geliştirmelerde Kullanılan İlaçlar			

Antidepresanların toplumda reçeteli veya reçetesiz olarak en yaygın kullanılan sınıfı, seçici serotonin geri alım inhibitörleridir (SSRI). Bunun yanı sıra, kanser hastalarında depresyon tedavisi için kullanılan en yaygın iki antidepresan sınıfı; trisiklik antidepresanlar (TCA) ve seçici serotonin geri alım inhibitörleridir (SSRI'lar). SSRI grubu ilaçlar, birinci nesil antidepresanlara (TCA vb) oranla daha fazla tolere edilebilmekte ve daha az toksik etkiye neden olmaktadır. Bu nedenle birinci nesil antidepresanlarla kıyaslandığında SSRI grubu antidepresanların kullanımı daha çok tercih edilmektedir (Caraci vd. 2011; Rodin vd. 2007). SSRI grubu ilaçlar içerisinde Fluoksetin, Fluvoksamin, Paroksetin, Sertralin, Sitalopram ve Escitalopram bulunmaktadır (Caraci vd. 2011). SSRI grubu antidepresanlar için moleküler hedef, serotonerjik nöronların terminallerinde ve hücre gövdelerinde bulunan serotoninin geri alınımından sorumlu olan serotonin taşıyıcı reseptörlerdir (SERT). SSRI'lar Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT)'nin substrat olarak bağlandığı bölgeye bağlanarak SERT'in işlevini inhibe eder. SERT'in inhibisyonu, beyindeki sinapslarda artmış 5-HT seviyelerine ve bu ilaçların antidepresan etkilerinin temeli olduğu düşünülen gelişmiş bir serotonerjik nörotransmisyonu neden olur.

2.1.3. Sertralin

Sertralin ((+)-cis-(1S,4S)-N-methy-4-(3,4-dichlorophenyl)-1,2,3,4-tetrahydro-1-naphthylamine), yüksek seçici ve güçlü serotonin geri alım inhibisyonu olan, iki kiral merkeze sahip antidepresandır (Şekil 2.1). Dopamin taşıyıcılarına bağlanabilmesi, sertralini diğer SSRI grubu antidepresanlardan ayıran bir özelliktir. Ayrıca α_1 -adrenoreseptörlerini bloke eden sertralin, nörotransmitter reseptörlerine düşük afinite göstermektedir (Hiemke ve Hartter 2000).



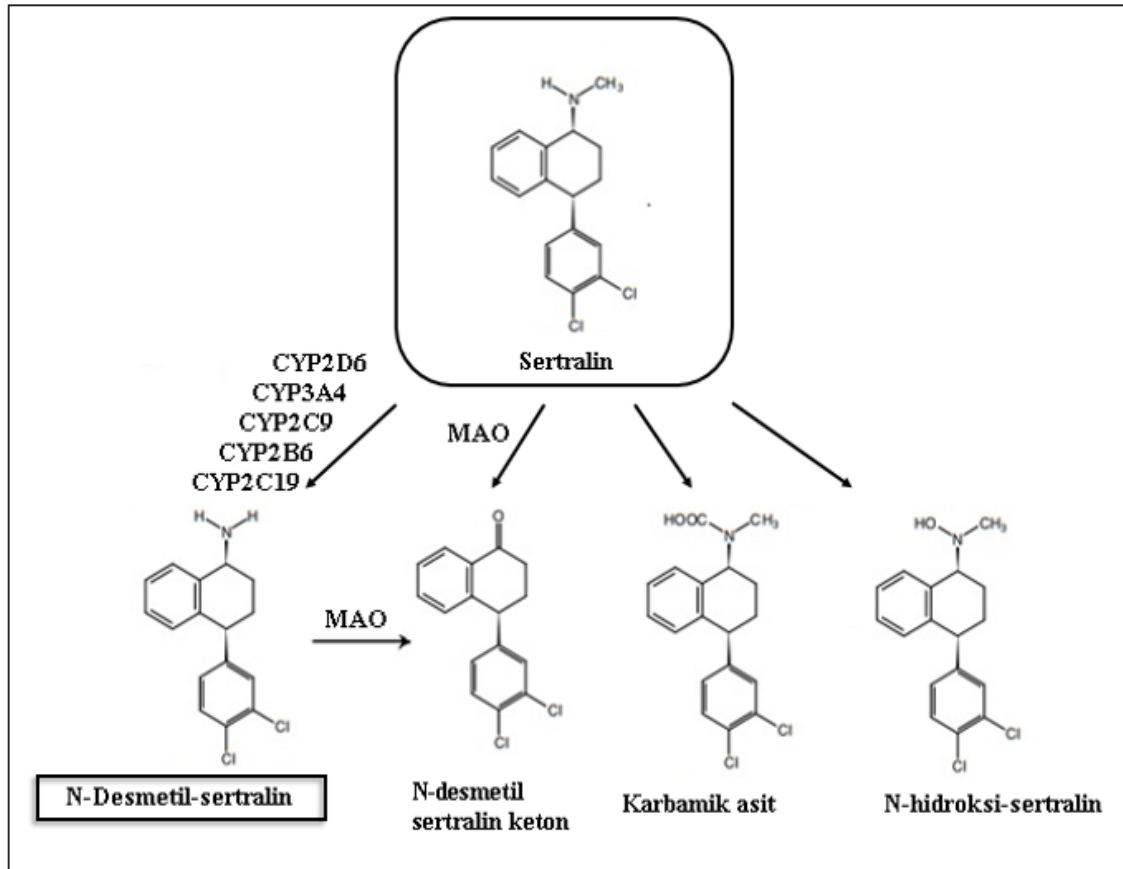
Şekil 2.1. Sertralin yapısal formülü (El-Enany vd 2011'den alınmıştır)

Sertralin, karaciğerde CYP450 (CYP2D6, CYP2C9, CYP2B6, CYP2C19 ve CYP3A4) izoformları ile metabolize edilmektedir (Yanık vd. 2011). Sertralin metabolizmasına dair bilgiler sınırlı miktarda bulunmaktadır. Biyotransformasyondaki ana metabolik basamak, N-demetilasyon ile N-Desmetilsertralin oluşumudur. Bu metabolit, sertraline göre daha yavaş emilmekte ve sertralinden 3 kat daha uzun sürede (60-100 saat) yarılanmaktadır. Bu nedenle N-desmetilsertralinin plazma konsantrasyonu, sertralinin yaklaşık 3 katı kadardır. Sertralin, monoamin oksidazlar (MAO) tarafından deaminasyona uğratarak N-desmetilsertralin, bir alkol olan alfa-hidroksi-N-desmetilsertralin-keeton oluşturmak üzere metabolize edilmektedir. Alfa-hidroksi-N-

desmetilsertralin-keton metaboliti, idrar ve dışkı ile atılmaktadır (Şekil 2.2) (Mandrioli vd. 2012).

Sertralin için doğrusal farmakokinetik önerilmekte ve metabolizmasında, cinsiyete ve yaşa bağlı farklılıklar görülmektedir. Sertralin emilimi yavaş gerçekleşmekte ve oral uygulamadan 4-8 saat sonra plazmada maksimum konsantrasyonlara ulaşmaktadır. Ana metabolit olan N-desmetilsertralin, plazmada en erken ortaya çıkan metabolit olup 8 saatlik gözlemde artış göstermektedir. Sertralinin ve ana metabolitin yarı ömrü ortalama 24 saattir. Sertralinin gıda ile birlikte uygulanması halinde plazma konsantrasyonu yaklaşık %25 oranında artmakta ve maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi kısalmaktadır (Mandrioli vd. 2012).

Sertralin, 5-HT'nin presinaptik nörona geri alımını bloke ederek, sinaps aralığında postsinaptik reseptörlere bağlanacak nörotransmitter miktarını ve sinaptik geçişi artırır. Sertralin, diğer SSRI grubu antidepresanlara kıyasla oldukça güvenilir ve yüksek tolerans edilebilirliğine sahiptir. Trisiklik antidepresanlarda yaygın olarak görülen kilo artışı ya da kardiyotoksisite gibi yan etkiler, sertralin uygulaması sonrası görülmemektedir (Tarhan vd. 1992).



Şekil 2.1. Sertralin metabolizması (Mandrioli, R 2012' den uyarlanmıştır)

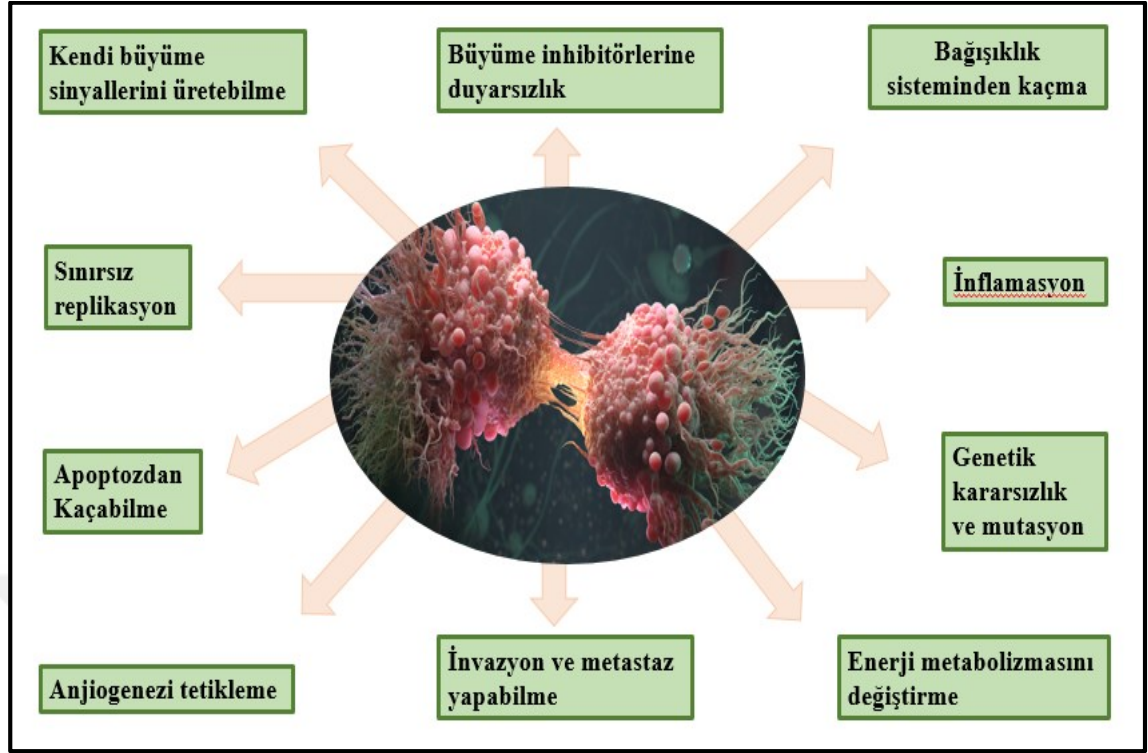
2.2. Kanser

Kanser, günümüzde ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır (Seymen ve Gümüşlü 2019). 2020 yılında, dünya çapında yaklaşık 19,3 milyon kişiye yeni kanser tanısı konduğu ve 10 milyon kişinin kanserden öldüğü belirlenmiştir (Ferlay vd. 2021). Toplumda her iki cinsiyette görülen kanserler ölüm sıklıklarına göre; akciğer, karaciğer, kolon, rektum, mide, meme, pankreas ve prostat kanserleri olarak sıralanmaktadır (Bray vd. 2018). Erkeklerde görülme sıklıklarına göre kanserler; akciğer, prostat ve melanom olmayan cilt kanseri, ölüm sıklıklarına göre ise sırasıyla akciğer, karaciğer ve mide kanseri olarak sıralanmaktadır. Kadınlarda ise görülme sıklıkları ve ölüm oranlarına göre kanserler; meme, akciğer ve serviks kanserleri olarak sıralanmaktadır (Ferlay vd. 2021).

Kanser, DNA’da bulunan genetik bilgilerin bozulması ile sağlıklı hücrelerin normal hücre bölünmesi kurallarını göz ardı ederek, kontrolsüz bir şekilde çoğalması sonucu oluşan bir hastalıktır. Genomda meydana gelen birçok mutasyonun birikimi sonucu oluşan kanser, sağlıklı hücrelerde bulunan hücre çoğalması, farklılaşması ve hücre ölümü gibi fizyolojik olayları kontrol eden moleküler yolların, biyokimyasal ve hücresel düzeydeki değişiklikleri sonucu oluşmaktadır (Carlos vd. 2019; Pasquier vd. 2011).

Kanser, normal hücrelerde de önemli fonksiyonlar gösteren üç sınıf gen ailesi tarafından yönlendirilmektedir. Bunlar; onkogenler (*Her2/neu*, *Ras*, *c-Myc* vb.), tümör baskılayıcı genler (TSG'ler) (*p53* ve *Rb*) ve DNA tamir genleridir (BRCA1). Proto-onkogenler; hücre büyümesini, hayatta kalmasını ve farklılaşmasını düzenleyen genlerdir. Normal hücrelerde proto-onkogenlerin ekspresyonu kontrolsüz hücre büyümesini engellemek için kontrollü olarak düzenlenmektedir. Hücresel proto-onkogenlerin onkogenlere dönüşmesi, gen içerisindeki spesifik nokta mutasyonları ve amplifikasyonları gibi aktive edici ya da fonksiyon kazandırıcı tek bir mutasyon sonucu meydana gelmektedir. Proto-onkogenlerin mutasyona uğramış tek bir kopyası kanseri teşvik edebilmektedir. Kanserde proto-onkogenlerin aktive edilmesi sonucu kontrolsüz hücre bölünmesi, sağ kalım ve invazyon ve metastaz meydana gelmektedir (Foster vd. 2008; Harrington vd. 2016; Rivenbark vd. 2017; Stewart ve Furtado 2018). Onkogenler kansere 3 farklı şekilde sebep olabilmektedir. Birinci yol genin sekansını değiştirecek olan bir mutasyon ile biyolojik fonksiyonları arttırır (RAS), ikinci yol gen amplifikasyonu ile olabilir (N-MYC), ve son olarak gen translokasyonu ile daha aktif bir promotör element tarafından kontrol edildiği, füzyon bir protein üretebilecek yeni kromozomal lokasyona taşınmasıyla gerçekleşebilir (BCR-ABL) (Harrington vd. 2016). Tümör baskılayıcı genler ise hücre proliferasyonunu inhibe eden ve tümörlerin gelişimini engelleyen proteinleri kodlar. Tümör baskılayıcı genlerin tek fonksiyonel kopyası hücre içi protein fonksiyonu için yeterlidir. Bu nedenle tümör oluşumu için bir genin her iki allelinin mutasyona uğraması gerekir (Stewart ve Furtado 2018).

Sağlıklı bir hücrenin büyümesi ve hayatta kalması için gerekli olan fizyolojik özelliklerin pek çoğu kanser hücresinde ya değişmiştir ya da tamamen yok olmuştur. Söz konusu değişikliklerin her biri kanser gelişimi sırasında, transforme olan hücrenin kazandığı yeteneklerdir (Şekil 2.3) (Hanahan ve Weinberg 2011).



Şekil 2.2. Kanser hücrelerinin on temel özelliği (Hanahan ve Weinberg 2011' den alınarak uyarlanmıştır)

2.2.1. Apoptoz

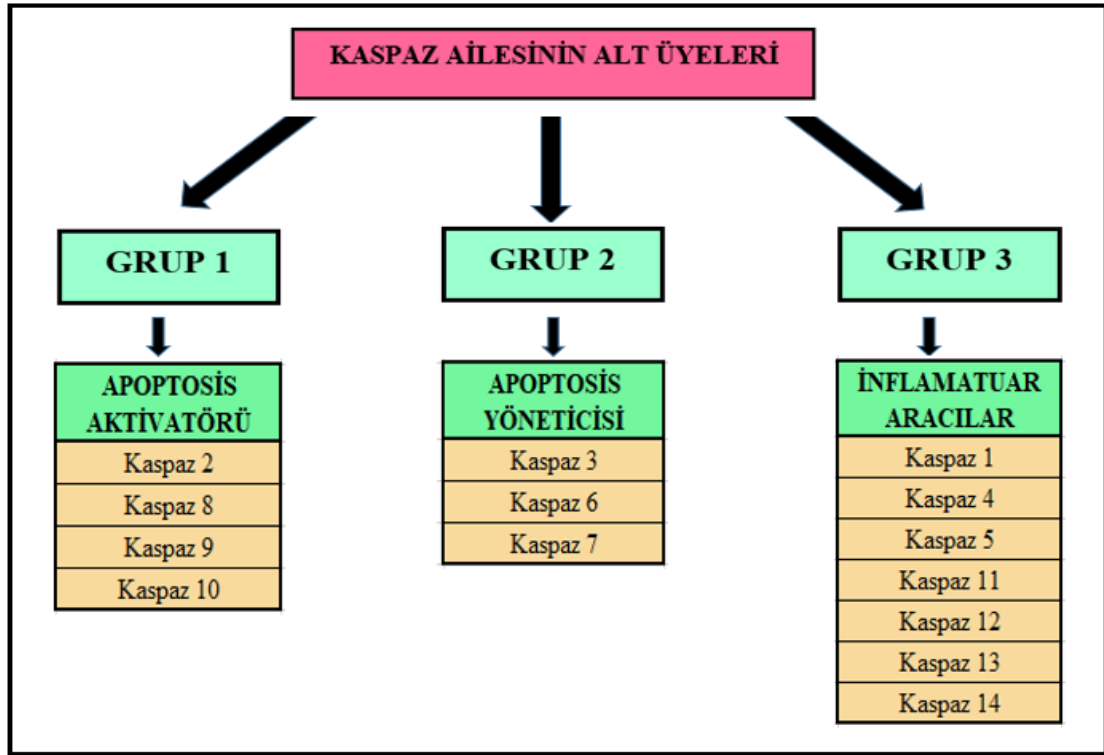
Apoptoz terimi ilk olarak Kerr, Wyllie ve Currie tarafından 1972 yılında, kontrollü olarak hücrenin yok oluşu tanımlamak amacıyla kullanılmıştır (Gewies vd. 2003). Apoptoz, farklı koşullarda bir dizi sinyal kaskadı tarafından düzenlenen hücre ölümü mekanizmasıdır. Apoptoz, çok hücreli organizmaların gelişmesi, fizyolojik ve patolojik koşullarda hücre popülasyonlarının ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesi ve anormal hücrelerin elenmesi gibi önemli fonksiyonlarda rol oynamaktadır (Fan vd. 2005). Apoptoz, hücre büzüşmesi, komşu hücrelerle temasın kaybedilmesi, apoptotik cisimciklerin oluşması gibi birçok morfolojik değişikliklerle karakterize edilmektedir (Gewies vd. 2003).

Hücre ölüm yollarının bir türü olan otofaji, 1963 yılında bilim insanı Christian de Duve tarafından sıçan karaciğer hücrelerinde keşfedilmiştir (Klionsky vd. 2008). Otofaji, hücre içi proteinler, makro-moleküller ve organeller gibi yapıların çift membranlı veziküllerin içine alınmasını, lizozomal enzimler yardımıyla parçalanmasını ve geri dönüştürülmesini sağlayan bir süreçtir (Yang vd. 2011; Carew vd. 2012). Otofajinin esas işlevi hücre içi homeostazı sağlamaktır. Otofaji, proteinlerin yıkılması, katlanamamış ya da yanlış katlanmış proteinlerin birikmesini önlemekten sorumludur. Sorumlu olduğu bu durumlar için protein ve organeller üzerinde kalite kontrolünü denetler ve sürdürür. Yıkımlar sonucunda oluşan yapıtaşları hücrenin tekrar kullanabilmesi için geri dönüştürülür ve bu durum hücre için enerji sağlar (Chen vd. 2010; Arslan vd. 2011; Anding vd. 2017). Otofaji; makro otofaji, mikro otofaji ve şaperon aracılı otofaji (CMA) olmak üzere üç farklı mekanizma ile gerçekleşmektedir (Arslan vd. 2011). Makro otofaji,

hücresinin sağ kalımı için hasar görmüş organellerin ve proteinlerin otofagozom adlı kesecik yardımıyla yıkımıdır. Bu yıkım mekanizması otofagozomun dış zarının lizozomun dış zarıyla birleşmesi ile başlar ve otofagozomun iç zarının lizozomal enzimlerle sindirilmesiyle oluşan otolizozom yapısının oluşumu ile sonlanır. Besin kıtlığı söz konusu olduğunda, sindirilme sonucu ortaya çıkan aminoasit, lipid, nükleosit ve karbonhidrat gibi moleküller, hücrenin işlevin devamı için sitozole geri transfer edilir. Otolizozom kalıcı bir yapı olmadığı için otofaji süreci bittiğinde parçalanır (Arslan vd. 2011; Kim ve Lee 2014; Anding ve Baehrecke 2017). Mikro otofaji, memelilerde lizozom organel membranının, bitkilerde ise lizozoma eş değer olan vakuol membranının invaginasyonu ile sitosolik moleküllerin (glikojenler, hasarlı proteinler ve organeller) bu yutulup yıkılmasıdır. Şaperon aracılı otofaji (CMA), biyokimyasal olarak yanlış katlanmış veya oluşturulmuş proteinlerin seçici olarak lizozoma taşınıp parçalanmasıdır (Klionsky vd. 2008; Arslan vd. 2011). Her ne kadar mekanizmalar farklı olsa da, otofajide rol alan proteinler 'otofaji ile bağlantılı proteinler' (Autophagy-related proteins (Atg)) olarak adlandırılır (Yang ve Klionsky 2009; Arslan vd. 2011; Anding ve Baehrecke 2017). Otofajik aktivitenin denetiminde görev alan rapamycin hedefi (TOR), önemli bir protein kompleksidir. TOR'un diğer işlevleri ise hücre büyümesini, protein sentezini ve hücre metabolizmasını düzenlemektir. TOR, TORC1 ve TORC2 olmak üzere iki farklı komplekse sahiptir ve memelilerde bulunan TOR kompleksi mTOR (mammalian target of rapamycin) olarak adlandırılmaktadır. Besinin fazla olduğu durumlarda TOR aktiftir ve Atg13 proteinini fosforile ederek otofajiyi baskılar. Açlık gibi stres durumlarında ise, Atg13 defosforile olarak TOR'un aktifliğini azaltır ve otofaji indüklenir (Yang ve Klionsky 2009; Rabinowitz ve White 2010; Arslan vd. 2011).

Hücre içinde apoptozun gerçekleşebileceği, tetikleyici sinyal molekülleri ile etkinleşen, dışsal ve içsel olmak üzere iki farklı yol bulunmaktadır. Dışsal yolak hücre yüzeyinde bulunan FAS, TNF, TRAIL gibi ölüm reseptörleri ile gerçekleşirken, içsel yolak ise mitokondriyel fonksiyonların işlevine bağlı gerçekleşmektedir. Bu iki yol ile gerçekleşen hücrenin intiharı, kaspazlar aracılığıyla birbirini takip eden birçok moleküler olay sonucu meydana gelmektedir. Bu sürecin kontrolünde anti-apoptotik ve pro-apoptotik proteinleri içeren BCL-2 ailesi rol almaktadır (Whitehall ve Greaves 2020). Apoptozun uyarılması ile normal koşullarda sitoplazma ve dış mitokondriyal membran arasında gömülü bulunan BAX ve BAK, dış mitokondriyal membranda konformasyonel değişime uğramaktadır (Westphal vd. 2011). Bu konformasyonel değişim ile mitokondriyal membrandan sitokrom-c dahil olmak üzere apoptotik proteinlerin sitoplazmaya salınması için bir geçit oluşturulmaktadır. Apoptotik proteinlerin sitoplazmaya çıkması ile kaspaz kaskadı aktif hale gelir (Whitehall ve Greaves 2020).

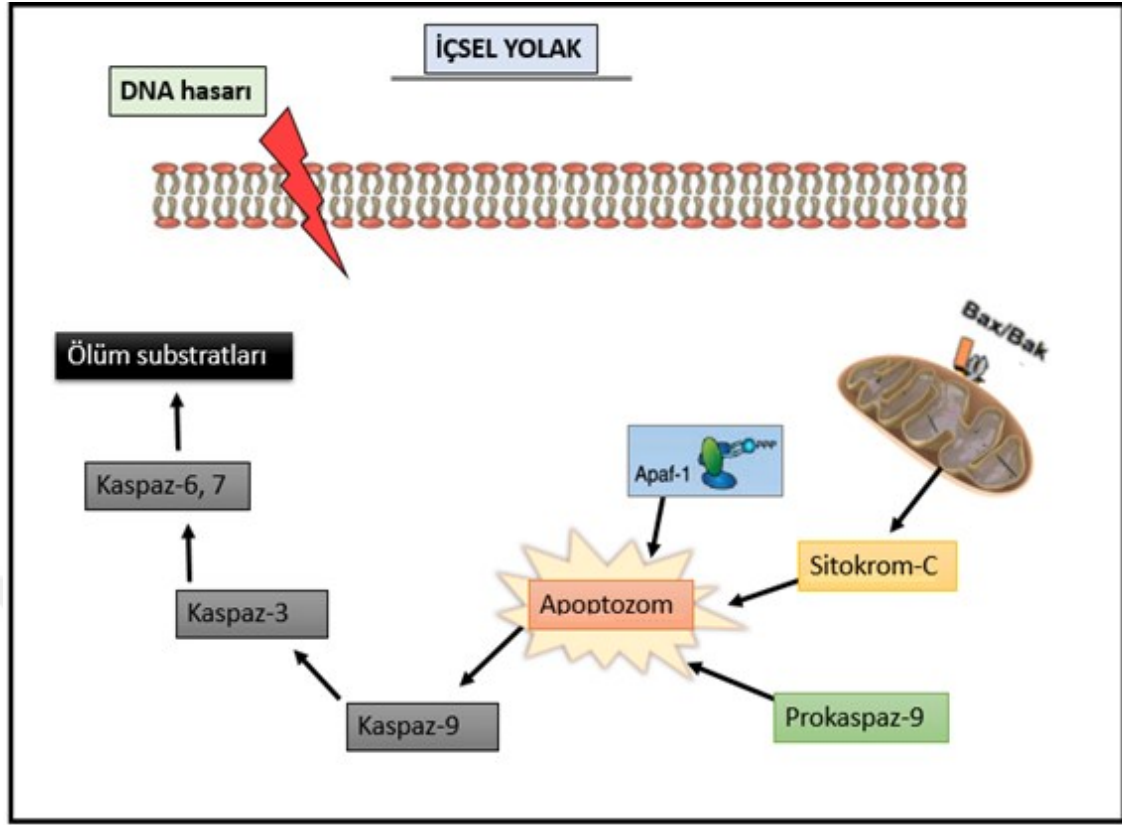
Kaspaz terimi, sisteine bağımlı aspartata özgü proteazlardan türetilmiştir. Hücrede kaspazlar, prokaspaz olarak adlandırılan inaktif zimojenler olarak sentezlenir. N terminal uçlarında, bazen bir bağlayıcı peptit ile ayrılan büyük ve küçük alt birimden oluşan prodomain kısım taşınır. Olgunlaşma sürecinde, prokaspazların büyük ve küçük alt birimleri arasında proteolitik olarak kesilerek ayrılır. Daha sonra iki küçük ve iki büyük alt birimden oluşan heterotetramer aktif kaspaz meydana gelir (Gewies vd. 2003). Kaspazların katalitik aktiviteleri, yüksek düzeyde korunmuş aktif bölge olan pentapeptit içindeki sistein kalıntısına bağlı olup, kaspazlar substratlarını Asp kalıntılarından sonra kesmektedir. Memelilerde 14 farklı kaspaz ailesi tanımlanmıştır (Şekil 2.4) (Gewies vd. 2003).



Şekil 2.3. Kaspaz ailesinin alt üyeleri (Fan vd. 2005'ten uyarlanmıştır)

2.1.1.1. Mitokondri aracılı içsel yol

Apoptozun mitokondriyal yolunun aktifleşmesi hipoksi, genetik hasar, kalsiyum iyon konsantrasyonunun sitozolde artması ve yüksek oksidatif stres gibi faktörlerle gerçekleşebilir. Apoptozun başlatılması tamamen BCL-2 ailesine ait olan proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki dengeye bağlıdır (Sankari vd. 2012). Apoptotik uyarıcılar, mitokondri dış membranında gömülü halde bulunan proapoptotik protein BAX ve BAK'ın konformasyonunun değişmesine sebep olmaktadır. Sağlıklı hücrelerde BAK, mitokondriyal dış membranın içine yerleşmiş şekilde bulunurken BAX sitosoliktir ancak küçük bir kısmı, mitokondriyal dış membranına gevşek bir şekilde tutunmuş olarak bulunmaktadır. Apoptoz sırasında, BAX sitozolden mitokondriyal dış membran içine yerleşerek BAK'ın konformasyonel değişimine neden olmaktadır (Westphal vd. 2011). Normal şartlarda mitokondri içinde bulunan sitokrom-c gibi apoptotik faktörlerin sitosole salınımına izin vermeyecek şekilde kapalı olan bu yapı konformasyonel değişimle por şeklinde açılarak sitokrom-C salınımına izin vermektedir. Sitoloplazmaya salınan sitokrom-C, apoptotik proteaz aktive edici faktör-1 ve prokaspaz-9 ile birleşerek apoptozu meydana getirmektedir. Apoptozom oluşumu ile aktifleşen kaspaz9, cellat kaspaz olarak isimlendirilen kaspaz-3'ü aktif hale getirir. Mitokondriden sitoplazmaya sitokrom-C dışında apoptoz indükleyici faktör (AIF), endonükleaz endoG, Smac/Diablo ve Htr/Omi gibi diğer proapoptotik faktörler de salınmaktadır (Şekil 2.5) (Gewies vd. 2003).



Şekil 2.4. Mitokondri aracılı içsel yolak (Gewies vd. 2003'den uyarlanmıştır)

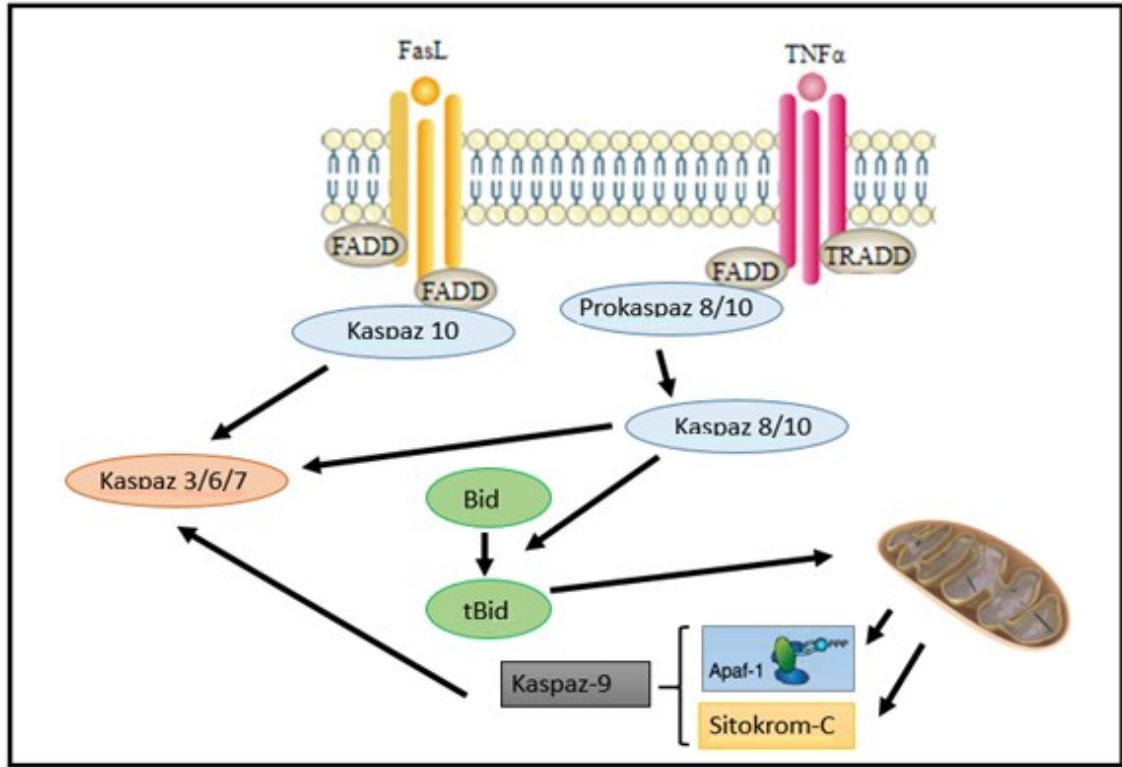
2.1.1.2. Hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile tetiklenen dışsal yol

Dışsal yol, apoptotik sinyalleri ileten hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörlerinin aktivasyonu aracılığı ile gerçekleşmektedir. En iyi bilinen ölüm sinyalleri Fas ligandı ve tümör nekroz faktörüdür (TNF). Fas, Fas ile ilişkili ölüm alanlarına (FADD) veya tümör nekroz faktör ile ilişkili ölüm alanlarına (TRADD) bağlanabilmektedir. Bu bağlanma sonucu plazma zarının sitosolik tarafında bulunan prokaspaz-8'in etki alanındaki ölüm efektör alanı (DED) ile etkileşime girerek, ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC) meydana gelmekte ve prokaspaz-8'i aktive etmektedir (Wong vd. 2011).

Prokaspaz-8'in aktivasyonundan sonra meydana gelen diğer kaspaz aktivasyonları hücre tiplerine göre farklılık göstermektedir. Kaspaz-8, hücre tipine göre iki farklı yol izleyebilir. Bunlardan birincisi, lenfoidlerde olduğu gibi, doğrudan prokaspaz-3'ü aktive etmesi, ikincisi ise sitosol içinde proapoptotik protein olan Bid'i keserek tBid aktif formuna dönüştürmesidir. Dışsal yolağın tetiklenmesi sonrasında kaspaz-8 aktivasyonu sonucu oluşan tBid, mitokondri yolunun önemli proapoptotik proteinleri olan sitokrom-c ve apoptoz indükleme faktörü gibi (AIF)'nin mitokondriden salınması ile apoptozisi tetiklemektedir (Şekil 2.6) (Fan vd. 2005; Wong vd. 2011).

Apoptoz sırasında prokaspaz-3'ün aktif formu olan kaspaz-3; kaspaz-8-9-10 ve granzim B (Gran B) tarafından aktive edilebilmektedir. Kaspazla aktive edilen deoksiribonükleaz (CAD), magnezyum bağımlı endonükleazdır. CAD, memelilerin

apoptozunda DNA yıkımında önemli bir rol oynamaktadır. Normal hücrelerde CAD, çekirdeğin içinde, spesifik inhibitörü olan ICAD ile kompleks oluşturarak bulunur. Ayrıca ICAD, CAD'nin uygun katlanması için gerekli olan moleküler şaperondur. Apoptoz sırasında kaspaz-9 nükleer gözeneklere zarar verir, kaspaz-3 ise ICAD/CAD kompleksini ayırmak için çekirdeğe girer. CAD'nin kompleksten serbest bırakılmasını sağlayarak DNA'nın fragmentasyonuna neden olur (Wong vd. 2011).



Şekil 2.5. Hücre yüzey reseptörleri aracılığı ile tetiklenen dışsal yol (Fan vd 2005'ten uyarlanmıştır)

2.2.2. Meme kanseri

2020 dünya kanser istatistiklerine göre kadınlarda en yaygın görülen ve ölüme neden olan kanserler sırasıyla; meme, akciğer ve serviks kanserleridir (Ferlay vd. 2021). Meme kanseri, kadınlarda tanı konulan kanser tiplerinin %30'unu kapsamakta ve %15 oranında ölüme neden olmaktadır (Siegel vd. 2019). 2020 yılında meme kanseri dünyada en çok tanı konulan kanser olarak belirlenmiştir (Ferlay vd. 2021).

Meme kanseri, östrojen veya progesteron reseptör ekspresyonuna ve ERBB2 gen amplifikasyonuna göre kategorize edilen 3 ana tümör alt tipinden oluşmakta ve bu alt tiplerin farklı risk profilleri ve tedavi stratejileri bulunmaktadır. Meme kanseri patogenezinde iki ana moleküler hedef belirlenmiştir. Bunlardan biri olan östrojen reseptörü alfa (ERα), invaziv özellikteki meme kanserlerinin yaklaşık %70'inde ifade edilen bir reseptördür. İkinci ana moleküler hedef olan epidermal büyüme faktörü-2 (ERBB2, HER2) ise meme kanserlerinin yaklaşık %20'sinde yüksek ekspresyon gösteren

tirozin kinaz reseptörüdür. ERa, steroid bir hormon reseptörüdür ve meme kanseri hücrelerinde, östrojen tarafından aktive edildiğinde, onkogenik büyüme yollarını aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür. Östrojen reseptörü (ER) veya progesteron reseptörü (PR) ekspresyonu olan tümörler hormon reseptör pozitif (HR +) olarak kategorize edilmektedir (Waks ve Winer 2019).

Östrojen reseptörler ERa ve ERb olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Bu reseptörler, hücre proliferasyonunda yer alan genleri uyarmaktadır. ER'ye karşı cevap olarak hücrelerin çoğalması, ERa ve ERb sinyalleri arasındaki dengenin bir sonucudur. ERa; rahim, prostat, yumurtalık, testiste Leyding hücreleri, epididimis, meme ve karaciğerde yüksek oranda ifade edilmektedir. ERa'nın ekspresyonu özellikle tümörlerin gelişimi ile yakından ilişkili olup, ERa ekspresyonu olmayan meme karsinomları genellikle daha agresif fenotipler oluşturmaktadır. MCF7 hücre hattında sadece ERa bulunmaktadır. ERb ise prostat epiteli, testis, yumurtalık granüloz hücreleri, kemik iliği ve beyinde yüksek oranda eksprese edilmektedir (Begam vd. 2017). 1994 yılında meme ve yumurtalık kanserinin oluşma riskini arttıran BRCA1 ve BRCA2 tümör baskılayıcı genlerindeki spesifik mutasyonların varlığı belirlenmiştir. Bu gen mutasyonlarını taşıyan bireylerde meme kanseri görülme riski %40 ile %80 arasında değişmektedir. Hem meme kanseri hem de yumurtalık kanseri aile öyküsü olan bireylerde genellikle kalıtsal BRCA1 mutasyonları görülürken, meme kanseri vakaları görülen erkek hastalarda ise BRCA2 mutasyonları görülmektedir (Lukong vd. 2017).

MCF7'nin yanı sıra, kanser çalışmalarında sıklıkla kullanılan diğer bir hücre hattı ise MDAMB-231'dir. MCF7 hücreleri ER ekspresyonu yoluyla yüksek hormon duyarlılığına sahip oldukları için hormon yanıtı çalışmaları için ideal bir model olarak kabul edilmekte ve meme hücrelerinin luminal epitelyal fenotipinin belirteçlerini protein seviyesinde ifade etmektedir (Levenson ve Jordan 1997). MDAMB-231 hücreleri ise MCF 7'nin ifade ettiği söz konusu belirteçleri ifade etmez. Mezenkimal fenotipin bir belirteci olarak yüksek düzeyde vimentin içeren MDAMB-231 hücreleri, üçlü negatif meme kanserleri için sıklıkla tercih edilen bir modeldir (Mladkova vd. 2010). Östrojen, progesteron ve c-erbB2 ekspresyonu negatif olan üçlü negatif meme kanserleri, özellikle beyin ve akciğerler olmak üzere diğer organlara agresif bir şekilde yayılabilmektedir. Bu nedenle, diğer meme kanserlerine göre tekrarlama olasılığı daha yüksektir. MDAMB-231 hücreleri, normal hücrelere gösterdikleri benzerliklerin çok az olması sebebiyle yüksek özgün tümörler olarak etiketlenmektedir (Foulkes vd. 2010). Bu çalışmada kullanılan MDAMB-231 hücreleri claudin-düşük meme kanseri olarak sınıflandırılırken, BRAF, CDKN2A, KRAS, NF2 ve TP53'te mutasyonlar bulundurmaktadır (Muguruma vd. 2020).

2.2.3. Kanser tedavileri

Kanser tedavilerinde bazı standart prosedürler benimsenmiş olsa da her kanser türüne ve evresine göre farklı tedavi yaklaşımları uygulanmaktadır. Kanser tedavilerinde radyoterapi, kemoterapi, cerrahi, immünoterapi, hormon terapisi, hedeflenmiş terapiler ve gen terapisi gibi biyolojik tedavi yöntemi kullanılmaktadır. Bu belirtilen yöntemler bazen tek başına bazen de birlikte kullanılabilir. Klasik tedavilerin her birinin farklı avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır (Baykara vd. 2016).

Radyoterapi, iyonize ışınlar kullanarak kanserli hücrelerinin öldürmesinin amaçlandığı tedavi yöntemidir. Bireyde sadece belli bir bölgenin hedeflenerek

radoterapiye maruz bırakılabildiği gibi tüm vücudu hedef alan tedaviler de uygulanmaktadır. Bu yöntemin geliştirilmesindeki temel hedef, hedeflenen kanser hücreleri üzerinde maksimum etki gösterecek ancak sağlıklı hücrelere de minimum hasarı verecek olan sistemlerin geliştirilmesidir. Kemoterapinin ise temel amacı kanser hücrelerini kemoterapötik ajanlar yardımıyla öldürmek olup, bu yöntemde sitotoksik etki gösteren anti-neoplastik ajanlar önemli rol oynamaktadır (Yap vd. 2011). Hem normal hücreler hem de tümör hücreleri çeşitli evrelerden geçerek çoğalmaktadır. Sadece çoğalmakta olan hücrelere etki gösteren kemoterapötik ajanlar, döngüye özgü ilaçlar olarak isimlendirilmektedir. Döngüye özgü olmayan ilaçlar, düşük hızda çoğalan kanser hücrelerin tedavisinde etkilidir. Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar daha farklı mekanizmalarla da etki gösterebilmektedir. Kemoterapi uygulamaları sırasında verilen ilaçlar alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, antimikrotübüller, biyolojik düzenleyiciler, kortikosteroidler, hormon antagonistleri, topoizomeraz inhibitörleri, tirozin kinaz inhibitörleri, monoklonal antikorlar ve diğerleri şeklinde sınıflandırılabilir (Baykara vd. 2016; Ölgün vd. 2002; Yap vd. 2011).

Günümüzde oldukça popüler olan kök hücreler, kanser de dâhil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılabilmektedir. Kanser tedavilerinde kök hücrelerin kullanılabilmesi için; söz konusu kök hücrelerin istenen hücre tipine dönüşebilmesi, transplantasyon sonrası konak hücreye uyum sağlayabilmesi, çevre doku ve organlara hasar vermemesi gibi birçok özelliğe sahip olması gerekmektedir. Kök hücre tedavileri vericinin hasta dışında bir kişi olduğu allojenik transplantasyon, hastanın kendi kök hücrelerinin kullanıldığı otolog transplantasyon ve vericinin hastanın ikizi olduğu sinjenik transplantasyon olmak üzere 3 farklı şekilde yapılabilmektedir. Kanser tedavilerinde hormonlar; genellikle prostat, meme ve endometriyum kanserlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Vücudun doğal yollardan ürettiği hormonun kanser hücrelerine bağlanması engellenerek, kanser hücrelerinin büyümesi baskılanmaktadır. Bu amaçla hormon sentez inhibitörleri, hormon reseptör antagonistleri ve hormon takviyesi olmak üzere üç farklı yöntem kullanılmaktadır. Kanserli dokunun vücuttan biyopsi yoluyla çıkartılması şeklinde uygulanan bir tedavi olan cerrahi işlemler, radyoterapi ve/veya kemoterapi ile birlikte de kullanılabilmektedir. Bu yöntemlere ek olarak immüterapi de uygulanmakta ve vücudun bağışıklık sisteminin, iç ve dış uyaranlara karşı cevap vermesi sağlanmaktadır. Bu amaçla sitokinler, antikorlar ve hücreler kullanılarak, bağışıklık sistemini harekete geçirip kanserli hücrelerin tanınması ve bireyin kendi bağışıklık hücreleri yardımı ile kanserli hücrelerin yok edilmesi hedeflenmektedir (Baykara vd. 2016).

2.2.4. Kapesitabin

Kapesitabin, 5-FU oral analogu olan tablet formda suda çözünabilir floropirimidin yapıda bir ilaçtır. Antimetabolit kemoterapötik ilaçlar sınıfı içerisinde yer alan ve hedefe özgü bir antikanser ajan olan kapesitabin, urasil ve timin içermektedir. Kapesitabin, üç aşamalı olarak detoksifiye edilmekte ve 5-FU'ya dönüşmektedir. Kapesitabinin metabolitleri, timidilat sentaz enzimini inhibe ederek nükleotit benzeri davranıp, RNA'ya dâhil olarak hücre hasarına neden olur (Aprile vd. 2009; Baskın ve Çalıbaşı 2011a).

Diğer ilaçlara göre tümör için seçici aktiviteye sahip olan kapesitabin, sistemik toksisiteye daha az sebep olmaktadır. Tek başına kapesitebin sitotoksik bir ajan değildir. Birçok farklı enzimatik reaksiyon sonucunda 5-FU'ya dönüşmekte ve bu şekilde sitotoksik aktivite göstermektedir (Saif vd. 2008). Bağırsaktan emilmekte olan kapesitabin, karaciğerde karboksilesteraz, 5'-deoksi-S-florositidin (5'-DFCR) ve sitidindeaminaz enzimleri aracılığıyla 5'-deoksi-D-florouridin'e (5'-DFUR) dönüştürülür. Son olarak timidin fosforilaz enzimi 5'-DFUR'yi 5-FU'ya dönüştürmektedir (Walko ve Lindley 2005). 5'-DFUR'nin 5-FU'ya seçici olarak dönüştürülmesi, esas olarak kanser hücrelerinde ve sağlıklı karaciğer dokusunda gerçekleşmektedir. Bu seçici aktivasyon ile intratümöral seviyede 5-FU aktivasyonu ve antitümör aktivitenin artması sağlanır (Saif vd. 2008). Kapesitabinin aktivasyon yolunun son aşamasında rol alan timidin fosforilaz enzimi, sağlıklı dokularla karşılaştırıldığında, neoplastik hücrelerde daha yüksek oranda ifade edilmektedir. Bu durum kapesitabini diğer antikanser ajanlara göre daha fazla tümör spesifik hale getirmektedir. 5'-DFUR, normal hücrelerle karşılaştırıldığında, tümör hücrelerinde yaklaşık 3-10 kat daha yüksek oranda bulunmaktadır (Aprile vd. 2009; Khvatova ve Semeikin 2011).

Antimetabolitler, neoplastik hücrelere karşı en yaygın kullanılan kemoterapötik ajanlardır (Mehrmohamadi vd. 2017). Kemoterapide kullanılan ajanın tolere edilebilirliği ve güvenilirliği çok önemlidir. Kapesitabin klinikte meme ve kolorektal kanserlerin tedavisinde tek ajan olarak kullanılabildiği gibi diğer kemoterapötiklerle kombine edilerek de kullanılabilir (Saif vd. 2008). Kapesitabin aslında iyi tolere edilebilen bir ajandır ancak yine de kapesitabin kullanan hastalarda diğer kemoterapötik ajanlarda da olduğu gibi mide bulantısı, kusma, ishal, disepsi ve anoreksi gibi yan etkiler görülebilmektedir (Aprile vd. 2009). Paklitaksel ve antrasiklinlere dirençli olan hücrelerde, kapesitabinin metastatik meme kanseri tedavisi için uygun olduğu belirtilmektedir. Ayrıca kapesitabinin bu ilaçlarla kombine halde uygulandığı tedavilerde başarılı sonuçlar elde edilmektedir (Aprile vd. 2009; Dooley ve Goa 1999; Saif vd. 2008).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hücreler ve Kültür Koşulları

MCF-7 (ATCC® HTB-22™, östrojen reseptör pozitif insan meme kanseri), MDAMB-231 (ATCC® HTB-26™, östrojen reseptör negatif insan meme kanseri hücre hattı) ve MCF-10A (ATCC CRL-10317, insan meme epitel hücre hattı) hücreleri Akdeniz Üniversitesi Biyoloji ABD, Kanser Moleküler Biyolojisi laboratuvarından temin edildi. MDAMB-231 ve MCF-7 hücreleri için %10 Fetal Bovin Serum (FBS), %1'lik esansiyel olmayan aminoasit, sodyum pirüvat ve antibiyotik içeren RPMI 1640 besiyerinde çoğaltıldı. MCF10A meme epitel hücreleri ise kendi özel besi yeri olan; MEGM singleQuats (Kat no: CC-4136) büyüme kiti ilaveli MEMB (Kat no: CC-3151, Memeli epitel bazal medium) besiyerinde açılarak, uygun hücre kültürü koşullarında çoğaltıldı. Bütün hücreler %5 CO₂'li atmosferde 37°C'de inkübe edilerek ATCC'nin tavsiye ettiği şekilde hücreler % 0.25 tripsin, % 0.03 EDTA karışımı ya da hücre kazıyıcılar ile kaldırılıp 1:2 ya da 1:3 oranında olacak şekilde pasajlandı, kullanılmayan hücreler ise %95 besiyeri ve %5 DMSO içerecek şekilde hazırlanan solüsyon içerisinde -80 °C'de derin dondurucuda saklandı.

3.2. Hücrelere Kapesitabin, Sertralin ve Kombinasyonlarının Uygulanarak Sitotoksite Etkinliklerinin Hesaplanması

Kemoterapötik ajan olan kapesitabin ve SSRI grubu antidepresan ilaçlar arasında yer alan Sertralin, tablet formda Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesinden temin edildi. Hücreler stoktan açılarak küçük petri kaplarına ekilip petri kapları %80-90 oranında dolunca tripsinizasyon ile kaldırılıp 1×10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara ekildi. Kapesitabin ve sertralin tabletleri fosfat tamponu (pH:6.2) ile çözdürülerek kullanıldı. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda besi yerleri uzaklaştırılıp, her iki ilaç %1 FBS içeren besi yeri içerisinde, en yüksek doz 1 µg/ml olacak şekilde yarı yarıya dozlar azaltılarak (1 µg/ml- 1.95 ng/ml) hazırlandı. Her iki ilaç kuyucuklara eş zamanlı olarak uygulandıktan sonra tek sıra kuyucuktaki hücre canlılığı WST ile belirlenip bu değer başlangıç zamanı olarak kaydedildi. Sertralin ve Kapesitabin ilaçlarının her birisi MCF-7, MDAMB-231 ve MCF-10A hücrelerinde 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde uygulanarak, ilaçların hücre canlılığı üzerindeki etkileri süre sonlarını takiben WST-1 hücre proliferasyon kiti kullanılarak değerlendirildi. İlaçların her biri için, inkübasyon süreleri sonunda, hücre canlılığının %50 azalmasına sebep olan dozlar (IC₅₀) belirlendi. En etkili doz aralığı ve inkübasyon süresi belirlenip, bu doz aralığı ve inkübasyon süresi kullanılarak kombinasyon çalışmaları gerçekleştirildi. Kombinasyonlar 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde uygulanıp, hücre canlılığı WST-1 hücre proliferasyon kiti kullanılarak değerlendirildi. Elde edilen kombinasyon verileri Ting-Chao Chou tarafından hazırlanmış, Chou ve Talalay tarafından hazırlanan “çoklu ilaç etkileşimlerde kombinasyonun verim hesabı” (Chou ve Talalay, 1984) temel alarak, iki ilacın olası ilaç etkileşimlerini değerlendirmek için, tasarlanmış Compusyn programı kullanılarak değerlendirildi. İlaçların tek ve kombine olarak uygulamaları sonucunda WST-1 sitotoksiste testlerinden elde edilen veriler kullanılarak Kombinasyon İndeksi (KI) hesaplandı ve kombinasyonun hücreler üzerinde sinerjistik etki gösterip göstermediği belirlendi.

3.3. Sitotoksosite Testleri

Sertralin, kapesitabin ve Sertralin/Kapesitabin kombinasyonunun hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi aşağıdaki testler ile belirlendi:

3.3.1. WST-1 Hücre Proliferasyon Kiti

WST-1 hücre proliferasyon kiti (ALKALİ SCİENTİFİC, Katalog No:Y410) kullanılarak ilaçların sitotoksik etkileri belirlendi. WST-1 testi, canlı hücrelerdeki metabolik aktiviteyi, hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz enzimi aracılığı ile WST-1'i parçalayarak çözülebilir formazan tuzları oluşturması prensibine dayanarak belirlemektedir. Hücreler stoktan açılarak küçük petri kaplarına ekilip petri kapları %80-90 oranında dolunca tripsinizasyon ile kaldırılıp 1×10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara ekildi. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda besi yerleri uzaklaştırılıp, her iki ilaç %1 FBS içeren besi yeri içerisinde, en yüksek doz $1 \mu\text{g/ml}$ olacak şekilde yarı yarıya dozlar azaltılarak ($1 \mu\text{g/ml}$ - 1.95 ng/ml) hazırlandı. İlaçlar her bir kuyucuğa $200 \mu\text{l}$ olacak şekilde eklenip ardından 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri boyunca %5 CO_2 'li atmosferde 37°C 'lik etüvde inkübe edildi. Her bir inkübasyon süresinin ardından kit protokolünde belirtildiği üzere kuyucuklardaki besi yerleri çekilmeden $10 \mu\text{l}$ WST-1 solüsyonu eklenip Ortalama 3 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda plakların absorbans değerleri mikropılaka okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan Go), 450 nm dalga boyunda ölçülerek kaydedildi.

3.3.2. Tripan mavisi

Hücre canlılığını doğrudan mikroskopik olarak belirleyebilmek ve elde edilen sitotoksosite test sonuçlarını desteklemek için tripan mavisi (% 0.4; fosfat tamponu içerisinde) testi kullanıldı. Tripan mavisinin hücre içerisine alınıp alınmamasına bağlı olarak hücre canlılığı değerlendirildi. Membran hasarı olan hücreler boyayı hücre içerisine alabildikleri için mavi renkte gözlemlendi. Canlı hücrelerde ise boyanın içeri girişi söz konusu olmadığı için şeffaf renk gözlemlendi. Canlı hücrelerin miktarı aşağıda verilen formül ile hesaplandı.

$$\frac{\text{Toplam Hücre Sayısı}}{\text{mL}} = \left[\frac{\text{Toplam Hücre Sayısı}}{\text{Hemostometrede Sayılan Kare Adedi}} \right] \times \text{Sulandırma Faktörü} \times 10$$

$$\% \text{ Canlı Hücre} = \left[\frac{\text{Canlı Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \right] \times 100$$

Şekil 3.1.Canlı hücrelerin miktarının hesaplandığı formül

3.4. Apoptozis Testleri

3.4.1. Kaspaz-3 enzim miktarının araştırılması

MDAMB-231 ve MCF-7 hücreleri küçük petri kaplarına 1×10^6 /mL olacak şekilde ekilerek, 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda, yapışan hücrelerin besiyerleri çekilerek, hücrelere sinerjistik etki gösteren dozlarda %1 FBS içeren besiyeri ile hazırlanan ilaçlar uygulandı. Her inkübasyon süresi sonunda besiyerleri çekildi, petride kalan hücreler, fosfat tamponu içerisinde hücre kazıyıcısı ile kaldırıldıktan sonra süpernatantların üzerine eklendi ve 2000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Süre sonunda çökelti uzaklaştırılarak çökelti üzerine 1 mL kaspaz hücre parçalama tamponu (1X) eklenerek hücreler, beş kez, seri olarak -80°C derin dondurucuda dondurulup sonra oda sıcaklığında çözündürülmek koşulu ile ekstre edildi. Ardından, ikinci kez 2000 rpm'de 20 dk santrifüj edilen örneklerin süpernatantları buz içerisine yerleştirilmiş ependorf tüplere aktarıldı. Örneklerde var olan kaspaz-3 varlığı, kolorimetrik eliza kit protokolü (Kat no: E4804Hu) izlenerek belirlendi.

3.4.2. Kaspaz-8 enzim miktarının araştırılması

MDAMB-231 ve MCF-7 hücreleri küçük petri kaplarına 1×10^6 /mL olacak şekilde ekilerek, 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda, yapışan hücrelerin besiyerleri çekilerek, hücrelere sinerjistik etki gösteren dozlarda %1 FBS içeren besiyeri ile hazırlanan ilaçlar uygulandı. Her inkübasyon süresi sonunda besiyerleri çekildi, petride kalan hücreler, fosfat tamponu içerisinde hücre kazıyıcısı ile kaldırıldıktan sonra süpernatantların üzerine eklendi ve 2000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Süre sonunda çökelti uzaklaştırılarak çökelti üzerine 1 mL kaspaz hücre parçalama tamponu (1X) eklenerek hücreler, beş kez, seri olarak -80°C derin dondurucuda dondurulup sonra oda sıcaklığında çözündürülmek koşulu ile ekstre edildi. Ardından, ikinci kez 2000 rpm'de 20 dk santrifüj edilen örneklerin süpernatantları buz içerisine yerleştirilmiş ependorf tüplere aktarıldı. Örneklerde var olan kaspaz-8 varlığı, kolorimetrik eliza kit protokolü (Kat no: YLA0109HU) izlenerek belirlendi.

3.4.3. Kaspaz-9 enzim miktarının araştırılması

MDAMB-231 ve MCF-7 hücreleri küçük petri kaplarına 1×10^6 /mL olacak şekilde ekilerek, 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda, yapışan hücrelerin besiyerleri çekilerek, hücrelere sinerjistik etki gösteren dozlarda %1 FBS içeren besiyeri ile hazırlanan ilaçlar uygulandı. Her inkübasyon süresi sonunda besiyerleri çekildi, petride kalan hücreler, fosfat tamponu içerisinde hücre kazıyıcısı ile kaldırıldıktan sonra süpernatantların üzerine eklendi ve 2000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Süre sonunda çökelti uzaklaştırılarak çökelti üzerine 1 mL kaspaz hücre parçalama tamponu (1X) eklenerek hücreler, beş kez, seri olarak -80°C derin dondurucuda dondurulup sonra oda sıcaklığında çözündürülmek koşulu ile ekstre edildi. Ardından, ikinci kez 2000 rpm'de 20 dk santrifüj edilen örneklerin süpernatantları buz içerisine yerleştirilmiş ependorf tüplere aktarıldı. Örneklerde var olan kaspaz-9 varlığı, kolorimetrik eliza kit protokolü (Kat no: YLA1683HU) izlenerek belirlendi.

3.4.4. DNA fragmentasyonu

MDAMB-231 ve MCF-7 hücreleri küçük petri kaplarına 1×10^6 /mL olacak şekilde ekilerek, petri kabının yüzeyine yapışmaları için 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Yapışan hücrelerin besiyerleri çekilerek, hücrelere %1'lik FBS içeren besiyeri ile hazırlanan ilaçlar sinerjistik etki gösteren dozlarda uygulandı. Her inkübasyon süresi sonunda besiyerleri çekildi, petride kalan hücreler üzerine kit içerisinde yer alan 1X inkübasyon tamponu fosfat tamponundan 200 µL eklenerek 25 C'de 30 dakika inkübe edildi. Süre sonunda örnekler 250 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant buz içerisine yerleştirilen ependorflara aktarıldı. Hücrelerdeki ölüm mekanizmasının apoptoz olup olmadığı, DNA fragmentasyon ELISA kit (Kat no: 11 585 045 001) protokolü izlenerek araştırıldı.

3.5. mTOR Miktarının Araştırılması

MDAMB-231 ve MCF-7 hücreleri küçük petri kaplarına 1×10^6 /mL olacak şekilde ekilerek, 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda, yapışan hücrelerin besiyerleri çekilerek, hücrelere sinerjistik etki gösteren dozlarda %1 FBS içeren besiyeri ile hazırlanan ilaçlar uygulandı. Her inkübasyon süresi sonunda besiyerleri çekildi, 2000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Dökelti buz içerisindeki ependorflara aktararak, hücreden salınan mTOR miktarının araştırılmasında kullanıldı. Petride kalan hücrelerin üzerine 2 mL fosfat tamponu eklendi ve hücreler kazıyıcı yardımı ile kaldırıldı. Hücreler beş kez, seri olarak -80°C derin dondurucuda dondurulup sonra oda sıcaklığında çözündürülmek koşulu ile ekstre edildi. Ardından, 2000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Süre sonunda çökelti buz içerisine yerleştirilmiş ependorf tüplere aktarıldı ve hücre içerisindeki mTOR miktarını saptamak için kullanıldı. Örneklerde var olan mTOR miktarı kolorimetrik eliza kit protokolü (Kat no: EK710533) izlenerek belirlendi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Sitotoksosite, DNA fragmentasyonu ve mTOR testlerinden elde edilen veriler Graph-pad InStat istatistik programında Tek Yönlü Anova ve ardından Dunnet çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Kaspaz-3 testlerinden elde edilen veriler, Graph-pad InStat istatistik programında, Tek Yönlü Anova ve ardından Bonferroni çoklu karşılaştırma testi kullanılarak değerlendirildi. Tüm veriler Ortalama $\pm$ SEM değerleri halinde, Sigma Plot 10.0 programı kullanılarak grafik haline getirildi.

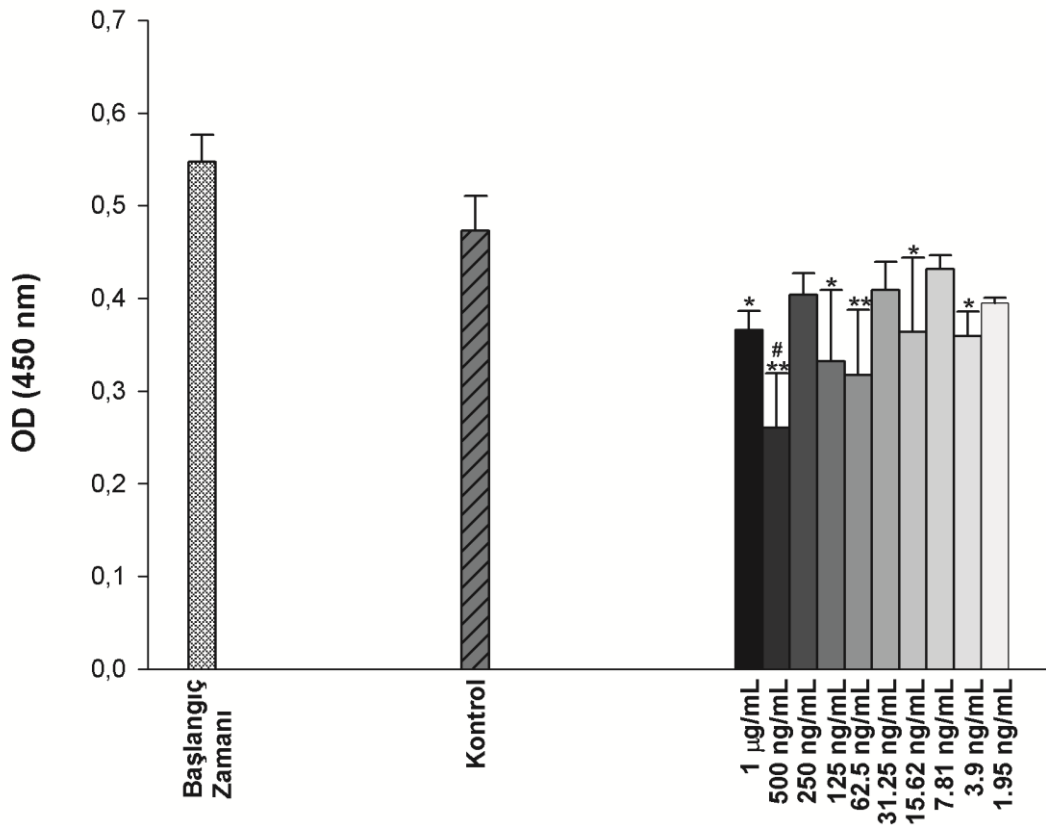
4. BULGULAR

4.1. MCF10A Hücrelerindeki Sitotoksik Etkiler

Kapasitabin ve sertralinin MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkileri 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde; 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 15, 7.5, 3.9, 1.95 ng/mL dozlarda incelendi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda her bir hücre hattı için optik yoğunluk (OD) grafikleri sigmaplot istatistik programında değerlendirilerek çizilmiştir. Hiç bir inkübasyon süresinde hücre canlılığını %50 oranında azaltan doz (IC_{50}) saptanmamıştır.

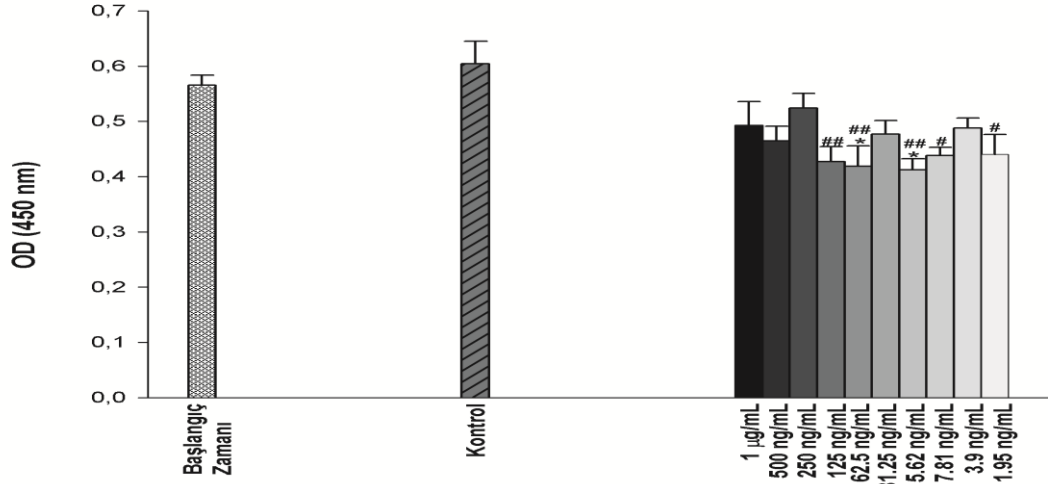
4.1.1. Kapasitabinin tek başına MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Kapasitabin, 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF10A hücrelerinde 250, 31.25, 7.8 ve 1.95 ng/ml dışındaki tüm dozlarda istatistiksel olarak önemli sitotoksik, 500 ng/ml'lik konsantrasyonda ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.1).



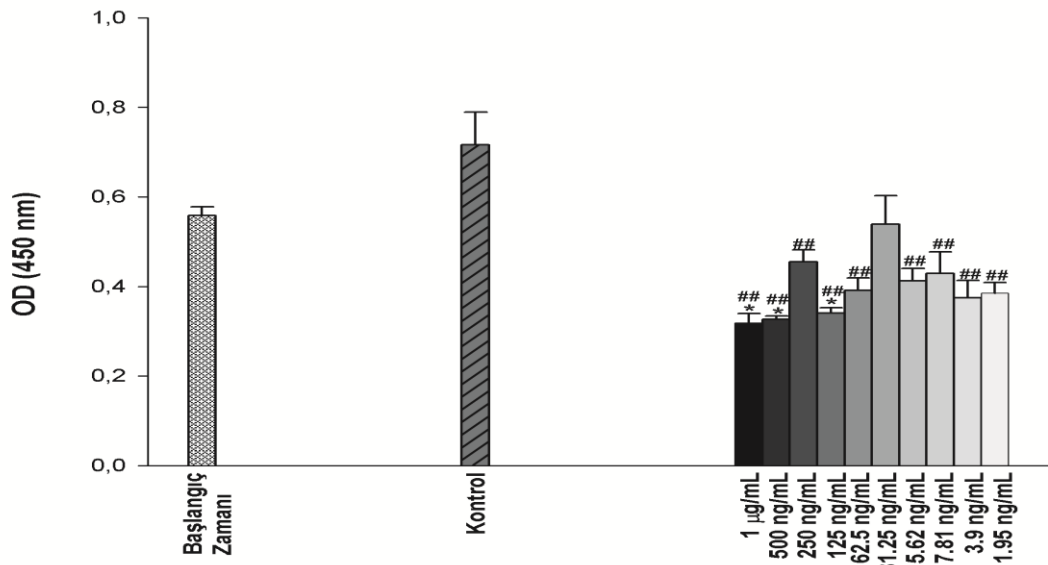
Şekil 4.1. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksikite (**, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$) ve hücre canlılığına etkisi (#, $p < 0.05$)

Kapasitabin, 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF10A hücrelerinde 15.62 ve 62.5 ng/mL dozlarda istatistiksel olarak önemli sitotoksik, 125, 62.5, 15.62, 7,9 ve 1,95 ng/mL dozlarda antiproliferatif etkiye sebep olmaktadır (Şekil 4.2).



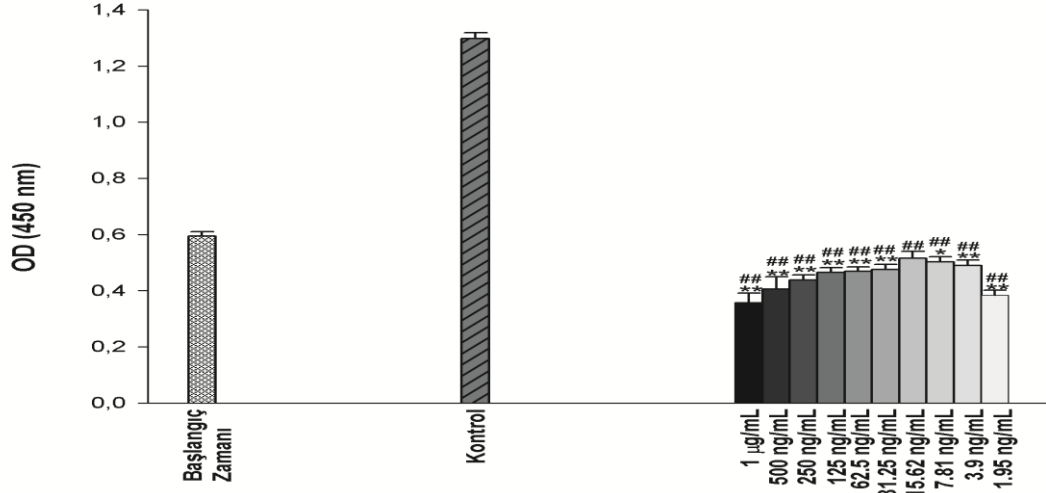
Şekil 4.2. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksosite (*, $p<0.05$) ve hücre canlılığına etkisi (#, $p<0.05$; ##, $p<0.01$)

Kapasitabin, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF10A hücrelerinde 1000, 500 ve 125 ng/mL dozlarda istatistiksel olarak önemli sitotoksik, 15.62 ng/mL dışındaki tüm dozlarda ise antiproliferatif etkiye sebep olmaktadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksosite (*, $p<0.05$) ve hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$)

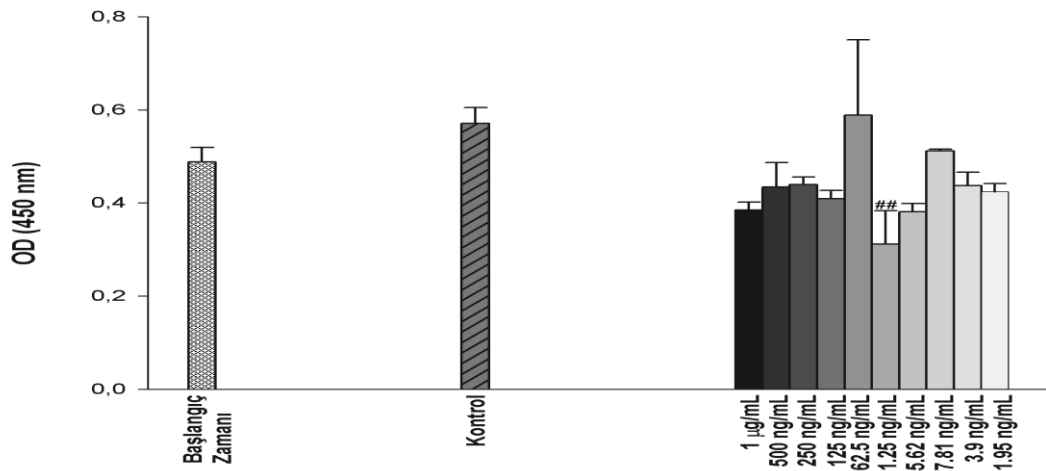
Kapasitabin, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF10A hücrelerinde tüm dozlarda istatistiksel olarak önemli sitotoksik ve antiproliferatif etkiye sebep olmaktadır (Şekil 4.4.).



Şekil 4.4. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksikite (**, $p<0.01$; *, $p<0.05$) ve hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.05$)

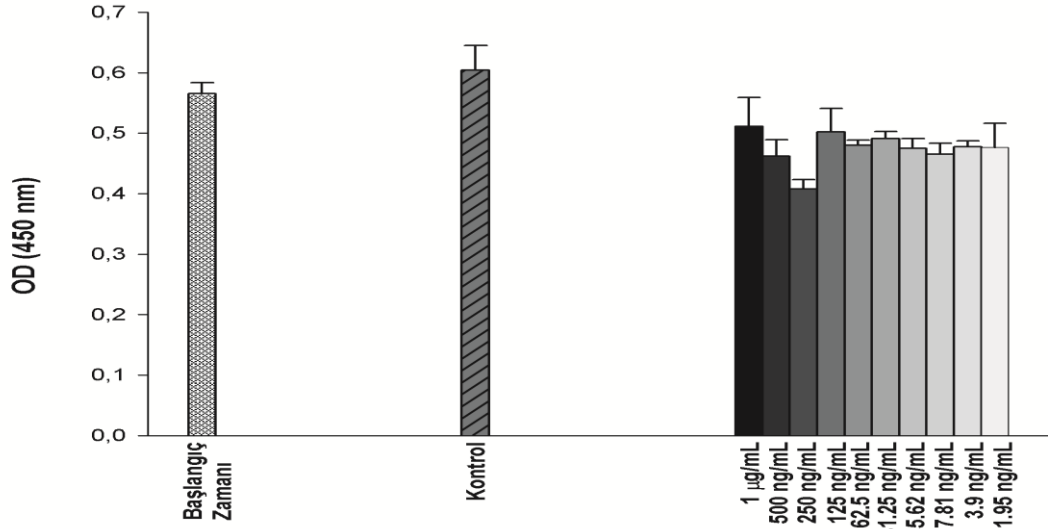
4.1.2. Sertralinin tek başına MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Sertralin, 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF10A hücrelerinde denenen hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki sergilemezken 31.25 ng/mL dozda istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilen antiproliferatif bir etki sergilemektedir (Şekil 4.5).



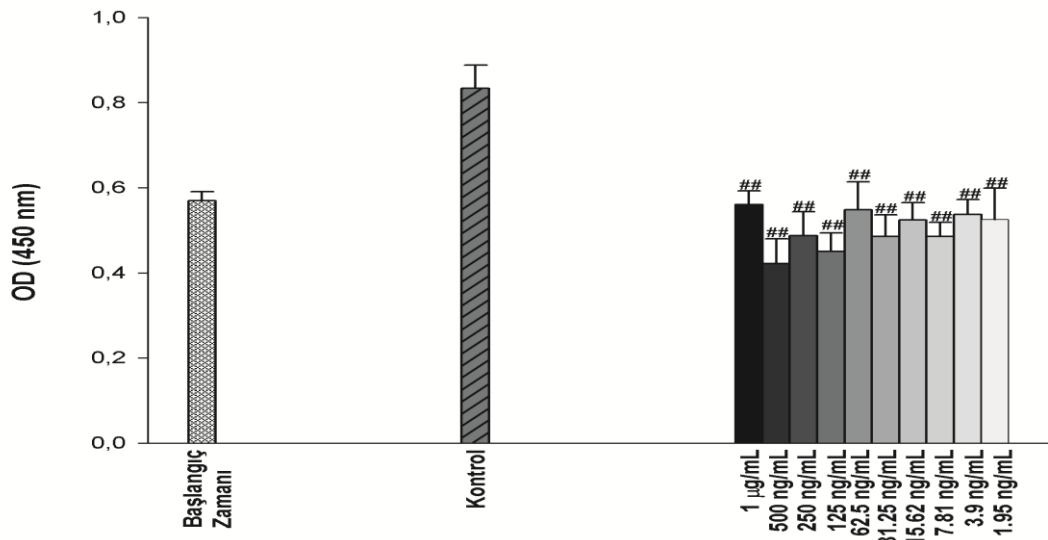
Şekil 4.5. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$)

Sertralin, 12 saatlik inkübasyon süreleri sonunda MCF10A hücrelerinde denenen hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik ve antiproliferatif etki sergilememektedir (Şekil 4.6).



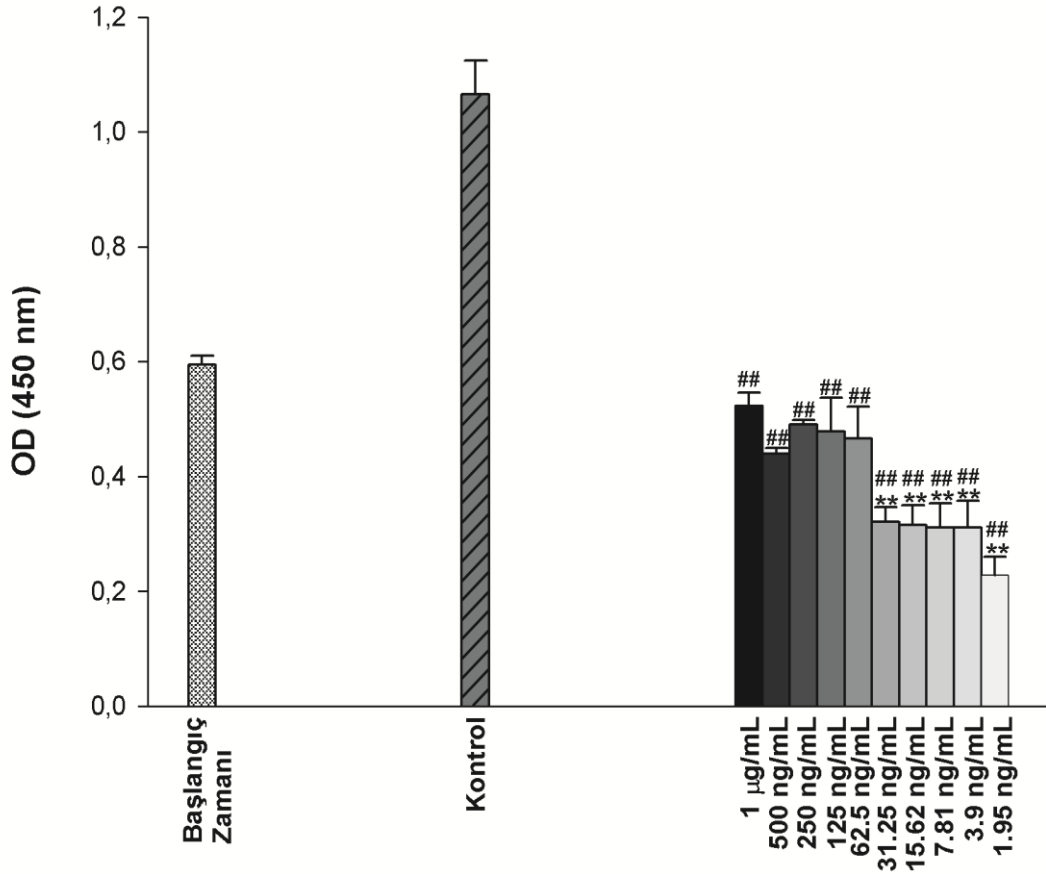
Şekil 4.6. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde hücre canlılığına etkisi

Sertralin, 24 saatlik inkübasyon süreleri sonunda MCF10A hücrelerinde denenen hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki saptanmazken, tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı antiproliferatif etki olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, p<0.01)

Sertralin, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise MCF10A hücrelerinde 31.25 ng/mL ve daha düşük dozlarda hücre canlılığının üzerinde istatistiksel olarak anlamlı sitotoksiste, tüm dozlarda istatistiksel anlamlı antiproliferatif etkiye sebep olmaktadır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF10A hücrelerinde sitotoksiste (**, $p<0.01$) ve hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$)

4.1.3. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Kapasitabin ve sertralin tek başına MCF10A hücrelerinde 1000-1.95 ng/mL dozlarda incelenerek, kombinasyon çalışmalarının devamında kullanılmak kapasitabin için; 300, 100, 50, 25 ve 10 ng/mL, sertralin için ise 300, 100, 50, 25, 10 ve 5 ng/mL'lik dozlar belirlendi. Uygulanan ilaçların dozlarının isimlendirilmesi tablo olarak verilmiştir (Çizelge 4.1). Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkileri 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde incelendi. İstatistik programından elde edilen veriler kullanılarak her bir hücre hattı ve inkübasyon süresini gösteren hücre canlılığı tablosu hazırlandı.

Çizelge 4.1. Kapasitabin/sertralin kombinasyonunda kullanılan dozların isimlendirilmesi

KAPASİTABİN		SERTRALİN	
K1	300	S1	300
K2	100	S2	100
K3	50	S3	50
K4	25	S4	25
K5	10	S5	10
		S6	5

MCF10A hücrelerinde uygulanan kombinasyon, 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF10A hücrelerinde hiçbir dozda hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı azalmaya sebep olmamaktadır. Ancak 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda K1/S1 ve K2/S2 doz setlerinde, MCF10A hücrelerinin hücre canlılığının istatistiksel olarak anlamlı azaldığı görülmektedir. Ayrıca 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri sonunda K5/S5 doz setlerinde MCF10A hücrelerinin hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı azaldığı görülmektedir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.2. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin yüzde canlılık çizelgesi

MCF-10A								
Dozlar	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-
K1	100.10	5.729	(**) 65.692	5.453	31.876	3.107	24.358	2.448
S1	74.479	5.521	(**) 42.620	1.796	21.232	0.2875	16.212	0.1605
K1S1	79.896	3.021	(**) 43.883	0.000	26.870	3.050	20.987	1.003
K1S2	74.167	0.8335	(**) 45.213	1.463	24.051	2.762	22.753	1.565
K1S3	66.042	2.084	(**) 44.615	2.062	21.462	0.2875	18.218	0.3210
K1S4	86.146	5.938	(**) 61.038	9.575	27.964	0.5755	18.821	1.726
K1S5	83.229	0.7290	67.221	0.4655	34.120	4.661	18.740	0.6820
K1S6	83.333	3.125	76.929	0.4655	39.011	8.056	23.355	4.334
S1K1	79.896	3.021	(**) 43.883	0.000	26.870	3.050	26.084	0.6425
S1K2	73.646	7.188	(**) 39.429	0.8645	20.196	0.4025	25.883	0.1205
S1K3	87.188	6.980	(**) 38.498	0.1995	21.174	1.841	25.442	2.087
S1K4	81.459	5.209	(**) 39.029	2.194	20.311	0.7480	24.479	1.044
S1K5	80.625	6.250	(**) 37.101	1.463	18.988	0.5755	22.994	1.405
K2	104.48	3.021	105.12	9.375	101.15	6.790	74.559	2.328
S2	70.521	0.3125	(*) 41.822	1.131	21.577	0.4025	16.453	0.8825
K2S1	73.646	7.188	(*) 39.429	0.8645	20.196	0.4025	13.884	0.3210
K2S2	67.917	1.459	(*) 43.152	2.328	20.714	0.9205	14.848	0.4015
K2S3	60.000	2.292	80.120	28.657	18.527	1.151	15.089	0.4815
K2S4	82.813	1.355	61.038	3.724	25.317	4.258	14.246	0.04050
K2S5	101.88	1.042	82.048	3989	99.598	38.148	125.68	1.124
K2S6	98.750	6.250	97.540	6716	108.17	1.381	99.599	5.297
S2K1	74.167	0.8335	(**) 45.213	1.463	24.051	2.762	26.927	2.368
S2K2	67.917	1.459	(**) 43.152	2.328	20.714	0.9205	23.957	0.2810
S2K3	70.000	3.333	(**) 39.229	0.1330	23.418	2.014	22.914	2.047
S2K4	70.834	7.084	(**) 37.766	0.2660	21.519	0.9210	21.870	0.6820
S2K5	75.104	1.146	(**) 37.500	0.3990	22.785	0.4600	21.228	0.8430

Çizelge 4.2'nin devamı

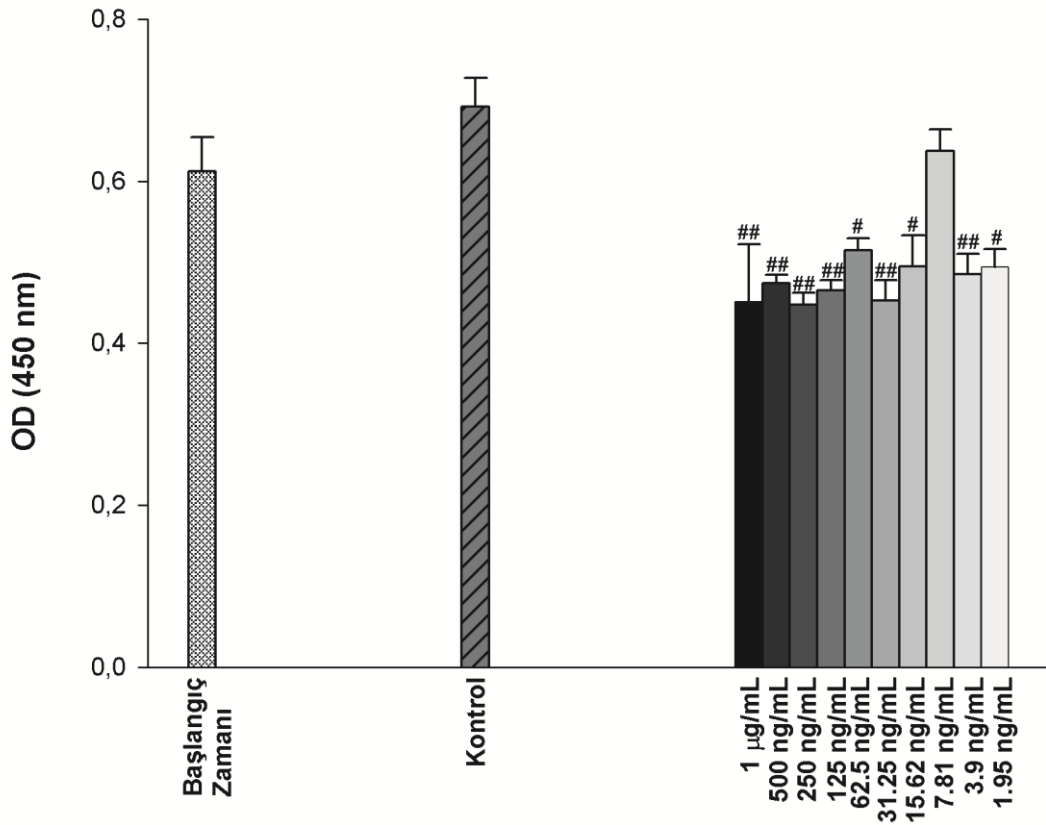
MCF-10A								
Dozlar	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-
K3	115.42	0.6250	121.88	3.391	112.03	5.006	86.637	5.578
S3	50.521	1.146	32.513	2.992	15.248	1.094	30.578	5.698
K3S1	87.188	6.980	38.498	0.1995	21.174	1.841	15.249	0.8830
K3S2	70.000	3.333	39.229	0.1330	23.418	2.014	15.049	0.1205
K3S3	57.709	5.209	37.301	1.929	19.736	1.899	12.881	0.04000
K3S4	86.667	3.750	69.282	3.989	25.777	4.258	13.684	0.7625
K3S5	110.52	5.729	96.077	26.795	143.96	1.842	167.74	9.872
K3S6	102.19	11.146	87.035	4.721	114.67	1.438	101.93	3.050
S1K1	66.042	2.084	44.615	2.062	21.462	0.2875	27.047	0.1605
S1K2	60.000	2.292	80.120	28.657	18.527	1.151	26.445	1.244
S1K3	57.709	5.209	37.301	1.929	19.736	1.899	22.472	1.685
S1K4	80.104	16.354	46.742	2.327	19.966	2.705	20.827	0.04000
S1K5	70.000	11.042	41.357	4.389	18.930	0.8630	86.437	63.564
K4	125.42	1.875	106.65	8.245	116.46	5.984	98.234	13.403
S4	71.146	2.188	57.115	13.764	29.287	8.804	13.283	0.04050
K4S1	81.459	5.209	39.029	2.194	20.311	0.7480	14.567	0.04050
K4S2	70.834	7.084	37.766	0.2660	21.519	0.9210	15.129	1.405
K4S3	80.104	16.354	46.742	2.327	19.966	2.705	12.842	0.1605
K4S4	81.979	1.979	81.051	9.110	33.314	0.5180	13.845	0.2005
K4S5	93.854	5.521	103.39	24.003	137.23	54.028	204.09	50.963
K4S6	104.90	16.146	84.043	4.655	115.02	2.705	101.53	10.835
S4K1	86.146	5.938	61.038	9.575	27.964	0.5755	34.551	1.164
S4K2	82.813	1.355	61.038	3.724	25.317	4.258	70.466	6.742
S4K3	86.667	3.750	69.282	3.989	25.777	4.258	90.048	8.668
S4K4	81.979	1.979	81.051	9.110	33.314	0.5180	88.523	3.130
S4K5	85.729	1.771	64.495	2.261	29.804	7.595	103.89	3.010
K5	117.92	4.375	113.50	17.886	107.83	3.107	94.061	2.167
S5	82.917	1.459	(*) 59.974	10.373	26.122	0.1150	(**) 26.285	10.474
K5S1	80.625	6.250	(**) 37.101	1.463	(*) 18.988	0.5755	(**) 13.604	0.2005
K5S2	75.104	1.146	(**) 37.500	0.3990	22.785	0.4600	(**) 14.085	0.3610
K5S3	70.000	11.042	(**) 41.357	4.389	(*) 18.930	0.8630	(**) 12.881	0.04000
K5S4	85.729	1.771	64.495	2.261	29.804	7.595	(**) 13.764	0.5220
K5S5	105.94	0.3125	78.923	3.524	174.51	49.770	172.31	16.694
K5S6	124.06	34.896	94.880	9.907	106.62	7.883	98.114	2.448
S5K1	83.229	0.7290	67.221	0.4655	7.883	4.661	105.86	3.130
S5K2	101.88	1.042	82.048	3.989	99.598	38.148	172.11	6.140
S5K3	110.52	5.729	96.077	26.795	143.96	1.842	199.44	5.137
S5K4	93.854	5.521	103.39	24.003	137.23	54.028	226.00	10.995
S5K5	105.94	0.3125	78.923	3.524	174.51	49.770	192.74	11.196

4.2. MDAMB-231 Hücrelerindeki Sitotoksik Etkiler

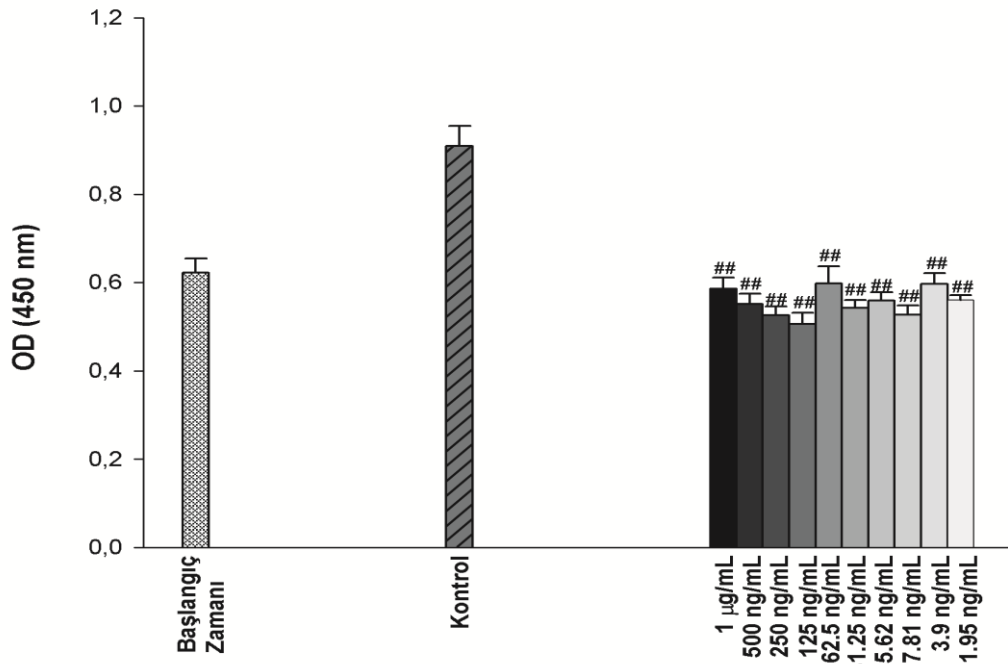
Kapasitabin ve sertralinin MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde; 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 15, 7.5, 3.9, 1.95 ng/ml dozlarda incelendi. Her bir hücre hattı için elde edilen optik yoğunluk (OD) verileri sigmaplot istatistik programında değerlendirilerek grafiklendi. Hiçbir inkübasyon süresi sonunda hücre canlılığını %50 oranında azaltan doz (IC₅₀) saptanmamıştır.

4.2.1. Kapasitabinin tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

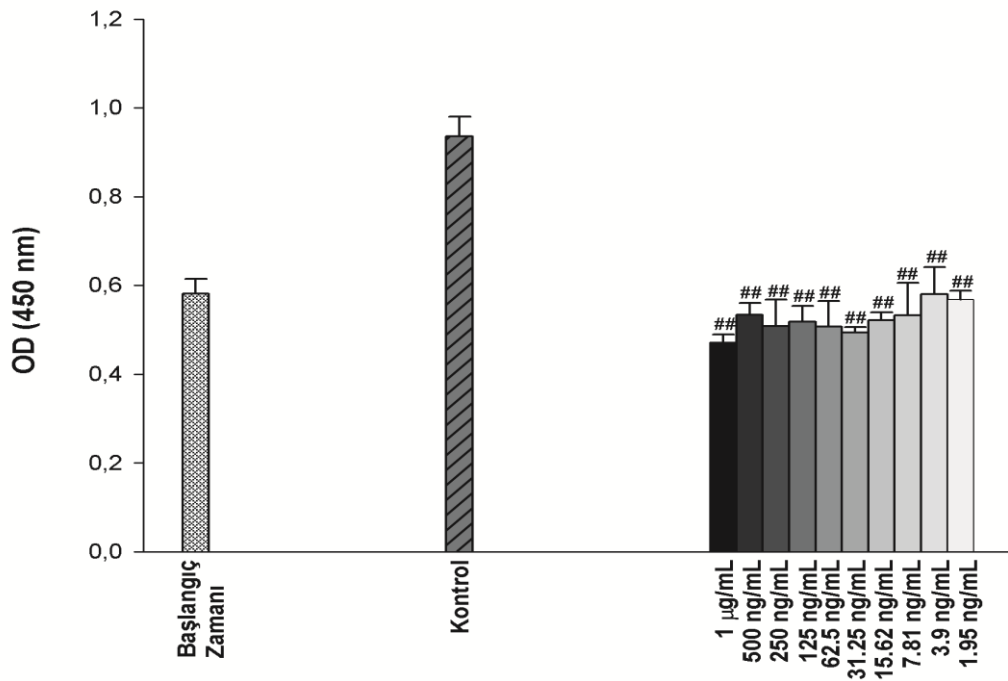
Kapasitabin, MDAMB-231 hücrelerinde denenen hiçbir doz ve inkübasyon süresinde hücre canlılığının üzerinde istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki sergilememektedir. Altı saatlik inkübasyon süresi sonunda 7.81 ng/ml dışındaki tüm dozlarda ve 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri sonunda tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı antiproliferatif etkiler görülmektedir (Şekil 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12).



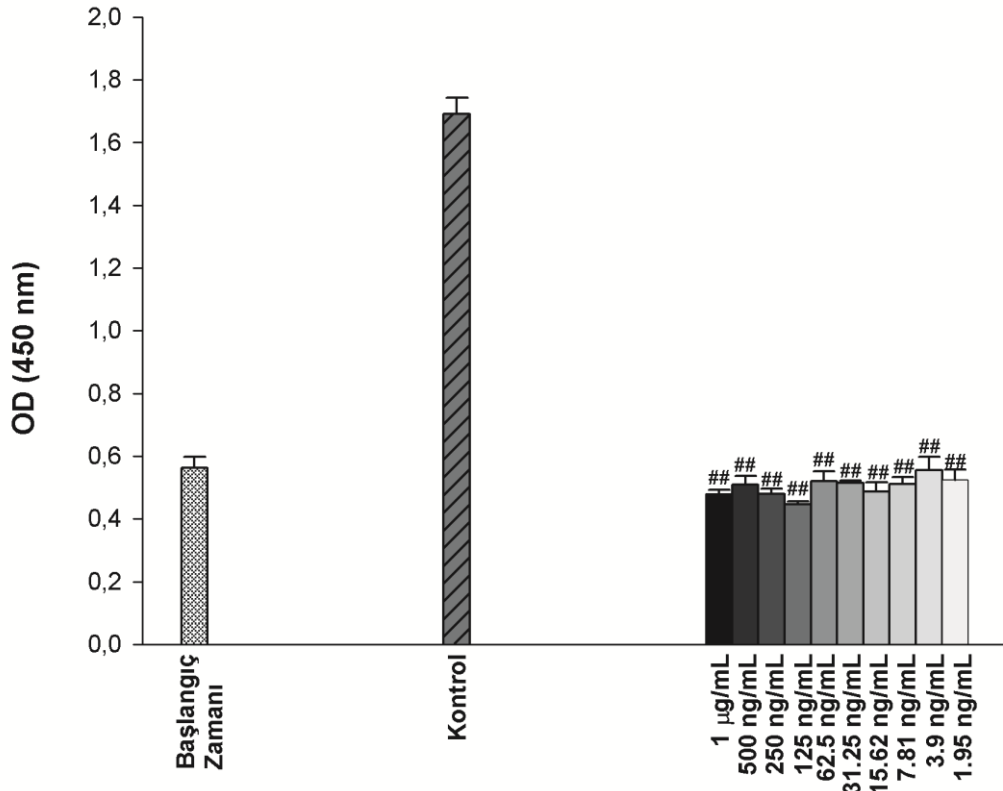
Şekil 4.9. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$)



Şekil 4.10. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p < 0.01$)



Şekil 4.11. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p < 0.01$)



Şekil 4.12. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$)

4.2.1.1. Kapasitabin' in tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

Instat istatistik programında değerlendirilen OD değerleri ve grafiklerden elde edilen verilere dayanarak, hiçbir inkübasyon süresinde yüzde elli ölüm değerleri hesaplanamadığı için, tüm doz ve inkübasyon sürelerinde WST-1 testi sonuçlarını desteklemek amacıyla tripan mavisi testi yapılmıştır. Her bir sayım kendi içerisinde 8 kez yapılmış olup excel programından yararlanılarak yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır.

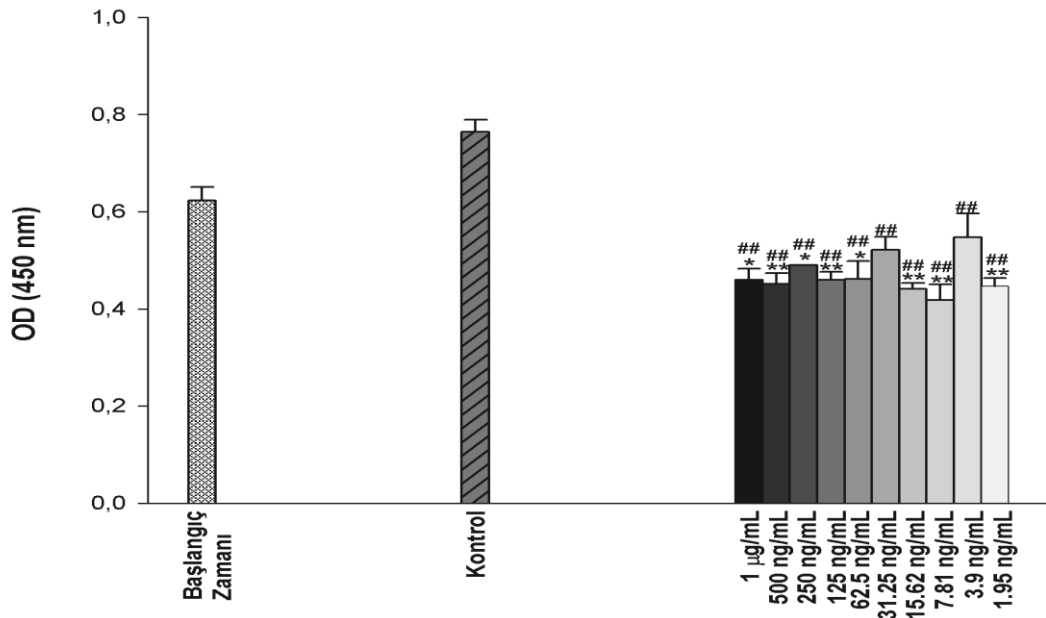
WST-1 hücre canlılığının belirlenmesi deneyinden elde edilen verilerin doğruluğunun değerlendirilmesi amacıyla yapılan tripan mavisi testinden elde edilen bulgular, toplam hücre sayısının hesaplanabilmesi için kullanılan formülle değerlendirildikten sonra her bir deney için elde edilen veriler instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistik programında her doz ve inkübasyon süresi için elde edilen “Ortalama” ve “Ortalamanın standart hatası” değerleri excel programından yararlanılarak (Çizelge 4.3.) aşağıda gösterildiği gibi belirtilmiştir.

Çizelge 4.3. Kapasitabinin MDAMB-231 hücrelerindeki 6,12,24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve Ortalamanın standart hatası (SEM) değerleri

MDAMB-231								
Dozlar	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-
1000	90,65	0,6603	68,15	7,092	60,113	7,313	61,399	8,322
500	91,414	1,187	69,436	6,643	54,646	6,671	61,638	8,015
250	94,418	0,6535	69,281	6,618	50,789	7,565	49,264	8,313
125	89,456	1,056	73,402	5,727	56,374	7,344	46,746	8,397
62,5	89,991	1,011	70,776	5,534	57,149	7,526	56,566	8,582
31,25	90,637	0,8595	65,84	6,341	68,93	5,594	54,04	8,043
15,62	86,036	1,024	66,783	5,859	66,392	5,772	66,535	6,935
7,8	83,051	1,158	64,9	5,678	62,232	6,187	57,319	7,993
3,9	87,431	1,173	63,648	6,123	58,649	6,365	55,39	8,075
1,95	84,773	1,059	57,629	6,563	62,725	6,283	54,75	7,64

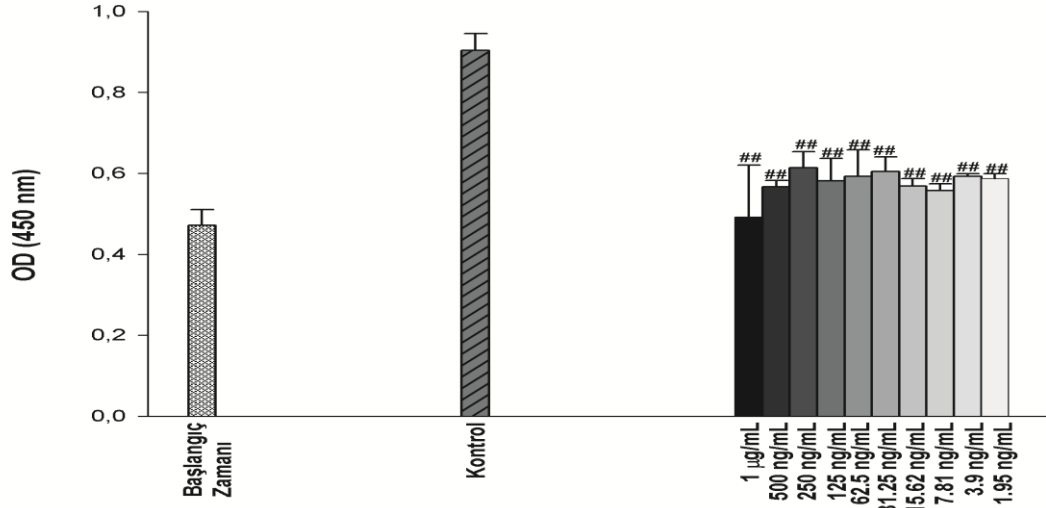
4.2.2. Sertralinin tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Sertralin, 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerinde 31.25 ve 3.9 ng/mL dışındaki tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik ve tüm dozlarda antiproliferatif etkiye sebep olmaktadır (Şekil 4.13).



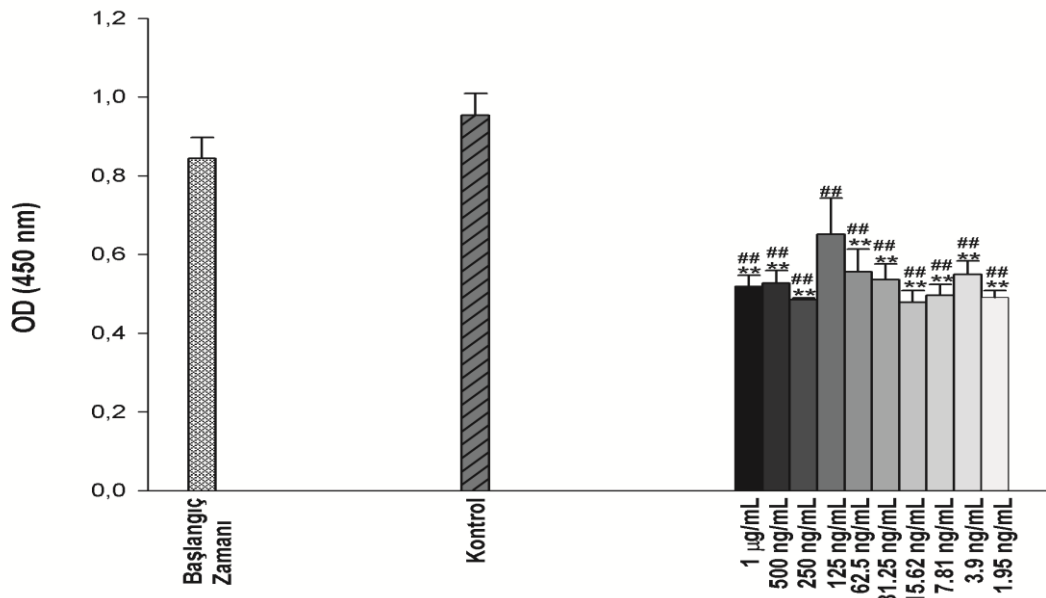
Şekil 4.13. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde sitotoksikite (**, p<0.01; *, p<0.05) ve hücre canlılığına etkisi (##, p<0.01)

Sertralin, 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerinde denenen hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki görülmezken, tüm dozlarda antiproliferatif etki saptanmaktadır (Şekil 4.14).



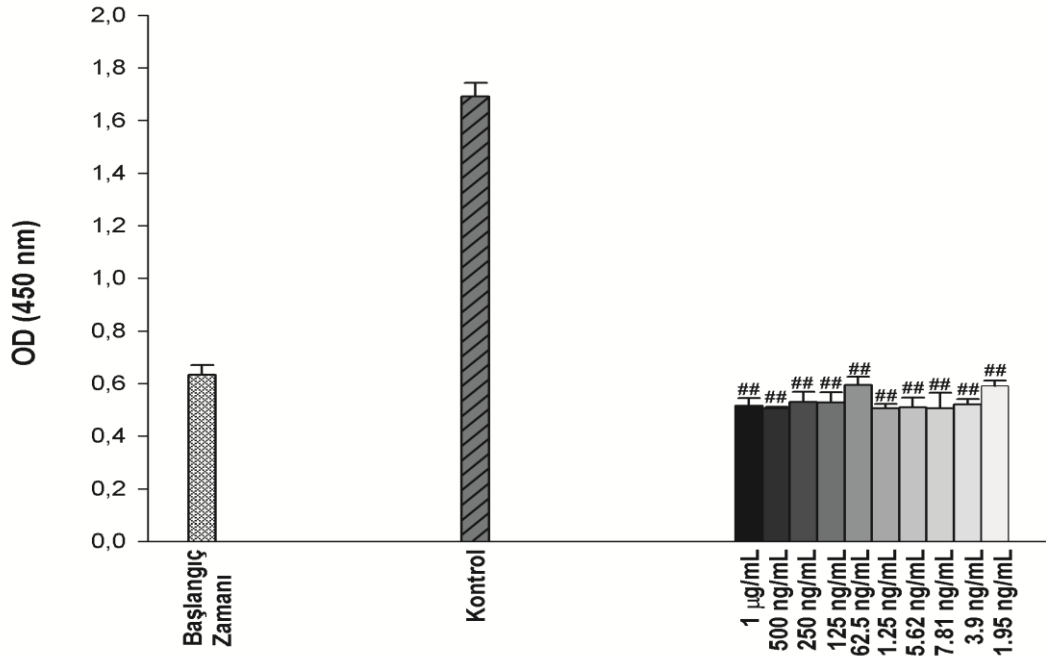
Şekil 4.14.. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p < 0.01$)

Sertralin, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerinde 125 ng/ml ışındaki tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik ve antiproliferatif etki sergilemektedir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde sitotoksikite (**, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$) ve hücre canlılığına etkisi (##, $p < 0.01$)

Sertralin, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerinde denenen hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki görülmezken, antiproliferatif etki görülmektedir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDAMB-231 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p < 0.01$)

4.2.2.1. Sertralinin tek başına MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

Instat istatistik programında değerlendirilen OD değerleri ve grafiklerden elde edilen verilere dayanarak hücrelerin inkübasyon sürelerine göre yüzde elli ölüm değerleri hesaplanamadığı için, tüm doz ve inkübasyon sürelerinde WST-1 testi sonuçlarını desteklemek amacıyla tripan mavisi testi yapılmıştır. Her bir sayım kendi içerisinde 8 kez yapılmış olup excel programından yararlanılarak yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır.

WST-1 hücre canlılığının belirlenmesi deneyinden elde edilen verilerin doğruluğunun değerlendirilmesi amacıyla yapılan tripan mavisi testinden elde edilen bulgular, toplam hücre sayısının hesaplanabilmesi için kullanılan formülle değerlendirildikten sonra her bir deney için elde edilen veriler instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistik programında her doz ve inkübasyon süresi için elde edilen Ortalama ve Ortalamanın standart hatası (SEM) değerleri excel programından yararlanılarak (Çizelge 4.5.) aşağıda gösterildiği gibi belirtilmiştir.

Çizelge 4.4. Sertralinin MDAMB-231 hücrelerindeki 6,12,24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri

Dozlar	MDA							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-
1000	65,075	7,345	68,637	6,638	65,213	7,362	67,472	7,017
500	69,716	7,282	61,687	6,994	60,23	7,324	61,358	7,455
250	67,362	7,583	65,006	6,812	72,399	6,362	62,309	7,561
125	71,061	7,385	63,199	7,134	71,711	6,244	61,631	7,475
62,5	60,911	6,874	69,836	6,049	69,437	7,232	48,828	8,243
31,25	65,475	7,412	66,651	6,941	67,278	7,052	46,16	8,293
15,62	36,222	7,915	61,315	6,964	71,523	6,845	60,501	7,874
7,8	56,527	6,889	60,934	6,884	66,535	6,985	65,11	6,759
3,9	58,878	7,699	61,718	7,553	62,316	7,57	47,578	8,039
1,95	63,254	7,729	63,75	6,661	58,534	7,676	69,316	7,226

4.2.3. Kapasitabin ve Sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Kapasitabin ve sertralin tek başına MDAMB-231 hücrelerinde 1000-1.95 ng/mL dozlarda incelenerek, kombinasyon çalışmalarının devamında kullanılmak üzere; kapasitabin için en etkili sitotoksik etkinin görüldüğü 300, 100, 50, 25 ve 10 ng/mL, sertralin için ise 300, 100, 50, 25, 10 ve 5 ng/mL dozlar belirlendi. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde incelendi. İstatistik programından elde edilen veriler doğrultusunda her bir hücre hattı ve inkübasyon süresini gösteren hücre canlılığı tablosu hazırlandı.

Çizelge 4.5. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin yüzde canlılık çizelgesi

Dozlar	MDA							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-
K1	92.559	3.828	86.275	8.623	50.116	0.6925	22.690	0.2730
S1	79.164	8.434	(*) 74.583	0.2705	35.566	6.282	32.960	7.513
K1S1	83.062	11.482	(**) 40.045	1.580	24.019	1.479	20.873	5.423
K1S2	68.675	2.623	(**) 36.976	2.032	21.663	0.1385	14.572	1.061
K1S3	63.501	7.654	(**) 35.982	1.941	18.707	0.3235	12.633	0.09050
K1S4	71.013	0.5670	(**) 43.070	4.334	19.492	1.016	12.633	0.2125
K1S5	77.251	9.072	72.912	4.018	51.733	5.728	14.602	0.4240
K1S6	84.409	9.568	67.224	7.721	68.130	1.802	22.024	4.090
S1K1	83.062	11.482	(**) 40.045	1.580	83.062	11.482	20.873	5.423
S1K2	81.007	1.914	(**) 39.774	0.04500	81.007	1.914	24.690	12.572
S1K3	76.541	0.5670	(**) 40.497	1.400	76.541	0.5670	20.873	9.543
S1K4	73.707	6.662	(**) 40.903	0.7220	73.707	6.662	17.722	5.120
S1K5	61.375	7.796	(**) 32.777	7.224	61.375	7.796	31.233	19.903

Çizelge 4.5'nin devamı

Dozlar	MDA							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-
K2	95.535	2.977	110.11	18.917	64.850	9.146	42.624	1.424
S2	50.390	9.284	(*) 57.653	0.4965	19.400	3.141	13.360	1.788
K2S1	81.007	1.914	(**) 39.774	0.04500	21.340	3.603	24.690	12.572
K2S2	60.879	1.630	(**) 35.937	1.716	17.876	2.264	11.179	0.4545
K2S3	44.720	11.410	(**) 35.802	2.574	16.213	1.340	11.118	0.2120
K2S4	73.494	0.9210	(*) 59.052	5.147	24.342	1.986	12.027	0.03050
K2S5	76.613	6.875	74.176	1.038	65.173	14.827	48.046	7.876
K2S6	77.605	0.07050	79.955	14.853	92.379	1.201	81.218	0.09100
S2K1	68.675	2.623	(**) 36.976	2.032	24.019	1.479	14.572	1.061
S2K2	60.879	1.630	(**) 35.937	1.716	21.340	3.603	11.179	0.4545
S2K3	63.501	4.961	(**) 35.531	0.5865	17.137	0.8775	12.027	0.3935
S2K4	58.966	2.410	(**) 36.298	1.445	19.723	1.247	10.542	0.1820
S2K5	61.304	9.142	(**) 29.842	5.824	16.213	1.063	12.299	1.151
K3	108.79	7.300	124.29	9.797	84.943	2.264	65.253	1.878
S3	54.217	11.127	43.251	4.244	17.367	2.956	10.815	0.03000
K3S1	76.541	0.5670	40.497	1.400	17.137	0.8775	20.873	9.543
K3S2	63.501	4.961	35.531	0.5865	15.150	0.4620	12.027	0.3935
K3S3	56.768	2.197	35.350	1.851	15.936	0.4155	11.633	1.212
K3S4	70.872	2.977	70.655	1.490	35.889	1.709	12.027	0.1515
K3S5	73.636	4.607	84.425	4.064	76.351	5.589	37.141	6.241
K3S6	79.943	3.827	79.955	2.032	100.05	5.081	85.096	3.787
S3K1	63.501	7.654	35.982	1.941	18.707	0.3235	12.633	0.09050
S3K2	44.720	11.410	35.802	2.574	16.213	1.340	11.118	0.2120
S3K3	56.768	2.197	35.350	1.851	15.936	0.4155	11.633	1.212
S3K4	49.327	14.175	36.750	0.7225	15.243	0.8315	10.573	0.03050
S3K5	46.917	1.701	30.113	7.088	15.889	0.7390	10.179	0.1815
K4	126.65	8.434	119.01	3.070	102.91	4.989	77.492	0.7875
S4	47.484	8.079	56.930	9.616	19.954	2.310	10.482	0.1215
K4S1	73.707	6.662	40.903	0.7220	19.723	1.247	17.722	5.120
K4S2	58.966	2.410	36.298	1.445	15.151	0.3695	10.542	0.1820
K4S3	49.327	14.175	36.750	0.7225	15.243	0.8315	10.573	0.03050
K4S4	82.637	13.466	76.930	3.521	33.210	0.4160	11.603	0.2125
K4S5	77.251	1.985	85.960	0.9935	71.363	4.204	55.983	13.026
K4S6	81.786	0.9920	81.897	6.050	98.338	5.035	85.308	7.513
S4K1	71.013	0.5670	43.070	4.334	19.492	1.016	12.633	0.2125
S4K2	73.494	0.9210	59.052	5.147	24.342	1.986	12.027	0.03050
S4K3	70.872	2.977	70.655	1.490	35.889	1.709	12.027	0.1515
S4K4	82.637	13.466	76.930	3.521	33.210	0.4160	11.603	0.2125
S4K5	68.604	9.780	68.127	4.741	48.314	2.587	12.239	1.333
K5	113.39	5.245	110.34	0.9935	97.783	3.557	80.036	10.724
S5	65.628	9.781	76.163	11.964	(**) 32.148	2.033	(**) 11.179	0.1515
K5S1	(*) 61.375	7.796	(**) 32.777	7.224	(**) 16.213	1.063	(*) 31.233	19.903
K5S2	(*) 61.304	9.142	(**) 29.842	5.824	(**) 15.751	0.8775	(**) 12.299	1.151
K5S3	(**) 46.917	1.701	(**) 30.113	7.088	(**) 15.889	0.7390	(**) 10.179	0.1815
K5S4	68.604	9.780	(*) 68.127	4.741	(**) 48.314	2.587	(**) 12.239	1.333
K5S5	71.651	10.560	85.960	0.9935	71.086	5.867	49.198	33.566
K5S6	86.677	8.009	73.138	1.716	113.67	6.698	94.517	6.544
S5K1	77.251	9.072	(*) 72.912	4.018	(**) 51.733	5.728	(*) 14.602	0.4240
S5K2	76.613	6.875	(*) 74.176	1.038	65.173	14.827	48.046	7.876
S5K3	73.636	4.607	84.425	4.064	76.351	5.589	37.141	6.241
S5K4	77.251	1.985	92.280	0.8130	71.363	4.204	55.983	13.026
S5K5	71.651	10.560	85.960	0.9935	71.086	5.867	49.198	33.566

4.2.3.1. Kapasitabin ve Sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

WST-1 hücre canlılığının belirlenmesi deneyinden elde edilen verilerin doğruluğunun değerlendirilmesi amacıyla yapılan tripan mavisi testinden elde edilen bulgular, toplam hücre sayısının hesaplanabilmesi için kullanılan formülle değerlendirildikten sonra her bir deney için elde edilen veriler instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistik programında her doz

ve 12 saatlik inkübasyon süresi için elde edilen Ortalama ve SEM değerleri excel programından yararlanılarak (Çizelge 4.6.) aşağıda gösterildiği gibi belirtilmiştir.

Çizelge 4.6. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri

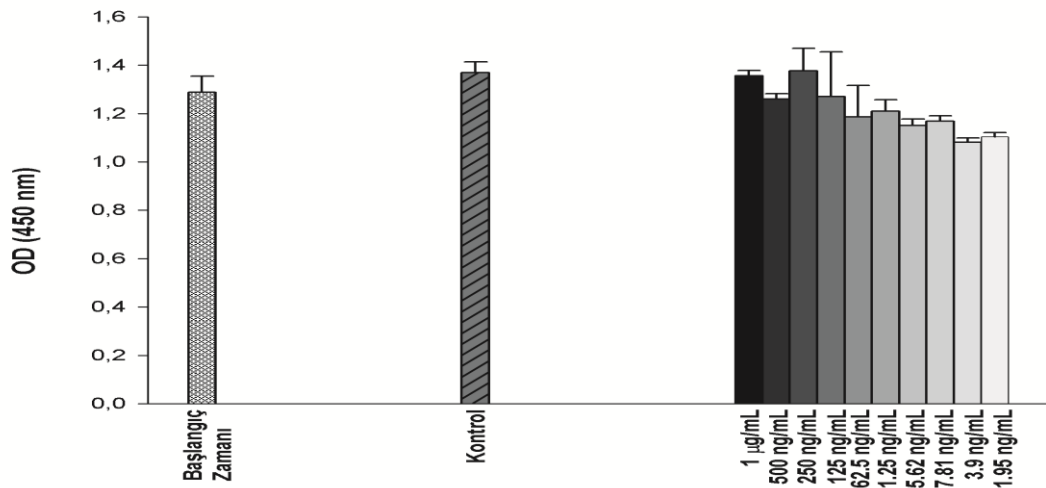
MDA		
Dozlar	12. saat	
	Ortalama	SEM +/-
K5	96,338	2,434
S3	82,543	2,859
K5S3	53,819	3,477

4.3. MCF7 Hücrelerindeki Sitotoksik Etkiler

Kapasitabin ve sertralinin MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde; 1000, 500, 250, 125, 62, 31, 15, 7.5, 3.9, 1.95 ng/mL dozlarda incelendi. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda her bir hücre hattı için optik yoğunluk (OD) grafikleri Sigma plot istatistik programında değerlendirilerek çizilmiştir. Hiçbir inkübasyon süresinde IC₅₀ değeri saptanmamıştır.

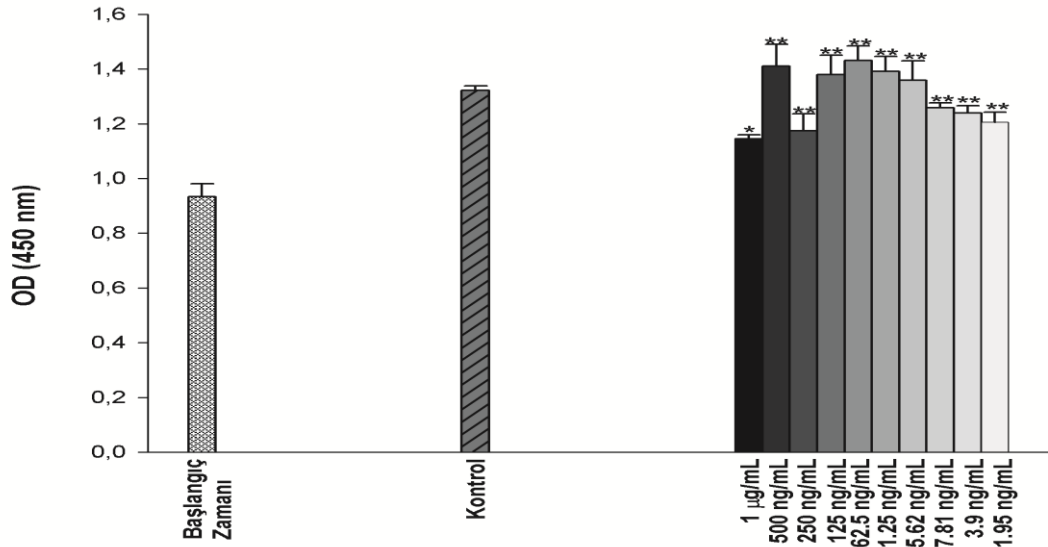
4.3.1. Kapasitabinin tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Kapasitabin, 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde denenen hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik ve antiproliferatif etki sergilememektedir (Şekil 4.17).



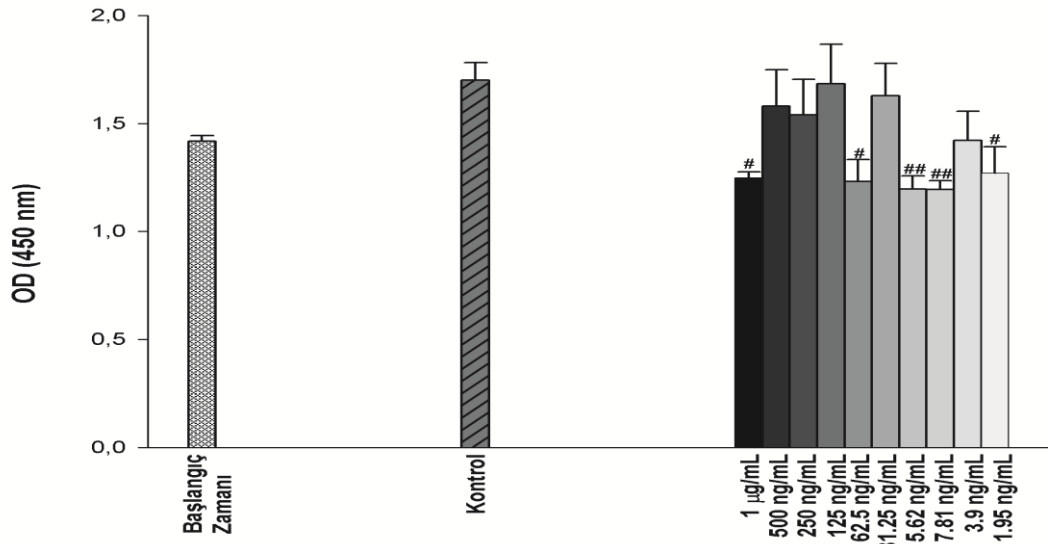
Şekil 4.17. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksikite ve hücre canlılığına etkisi

Kapasitabin, 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde denenen tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki sergilememektedir (Şekil 4.18). Başlangıç zamanına oranla hücre canlılığının artmasına sebep olmaktadır.



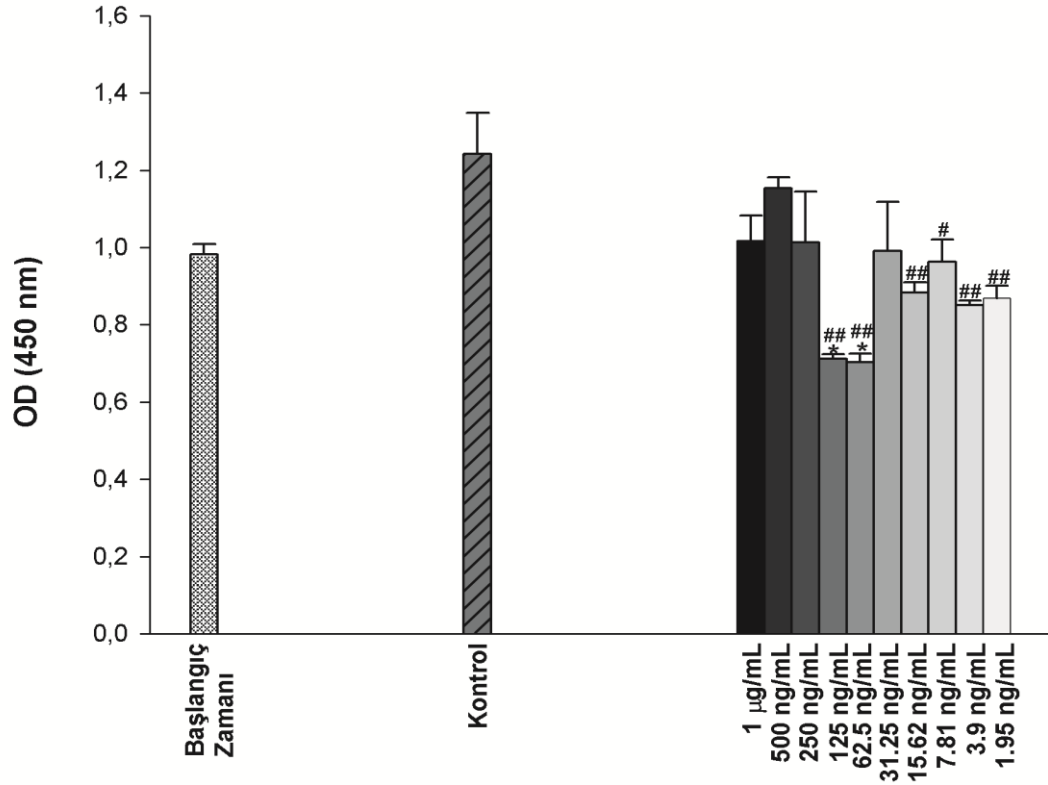
Şekil 4.18. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksik etkisi (**, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$)

Kapasitabin, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde 1000, 62.5, 15.62, 7.81 ve 1.95 ng/mL dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki sergilememektedir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p < 0.01$; #, $p < 0.05$)

Kapasitabin, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde 125 ve 62.5 ng/ml dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki, 125 ng/mL ve daha düşük dozlarda antiproliferatif etki sergilemektedir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20. Kapasitabinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenilen dozlarının 48 saatlik inkübasyon sürelerinde MCF7 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$)

4.3.1.1. Kapasitabin' in tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

İstatistik programında değerlendirilen OD değerleri ve grafiklerden elde edilen verilere dayanarak hücrelerin inkübasyon sürelerine göre yüzde elli ölüm değerleri hesaplanamadığı için, tüm doz ve inkübasyon sürelerinde WST-1 testi sonuçlarını desteklemek amacıyla tripan mavisi testi yapılmıştır. Her bir sayım kendi içerisinde 8 kez yapılmış olup excel programından yararlanılarak yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır.

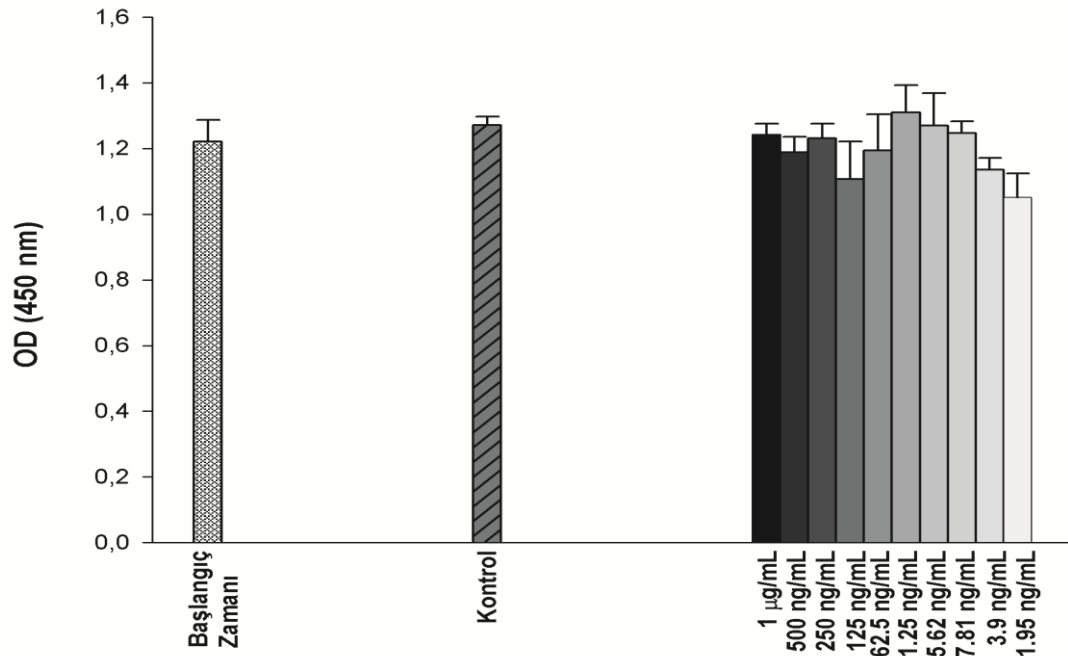
WST-1 hücre canlılığının belirlenmesi deneyinden elde edilen verilerin doğruluğunun değerlendirilmesi amacıyla yapılan tripan mavisi testinden elde edilen bulgular, toplam hücre sayısının hesaplanabilmesi için kullanılan formülle değerlendirildikten sonra her bir deney için elde edilen veriler instatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistik programında her doz ve inkübasyon süresi için elde edilen Ortalama ve SEM değerleri excel programından yararlanılarak (Çizelge 4.7.) aşağıda gösterildiği gibi belirtilmiştir.

Çizelge 4.7. Kapasitabinin MCF7 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri

MDA								
Dozlar	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-
1000	97	0,5162	77,858	6,062	79,767	5,464	91,913	0,4593
500	91,997	0,9097	80,82	4,861	85,805	1,55	85,984	1,015
250	94,821	0,8553	75,246	6,527	91,525	0,611	89,186	0,6853
125	92,893	0,8842	81,264	4,796	92,394	0,7729	90,306	0,7805
62.5	86,933	1,029	90,345	0,9933	72,504	5,141	87,287	0,9441
31.25	87,39	1,462	84,633	3,35	93,157	0,4994	85,766	0,9361
15.62	86,659	1,039	79,863	1,039	78,677	6,17	82,762	0,8469
7.8	92,383	0,8994	78,221	5,406	76,759	6,639	83,666	0,5876
3.9	87,081	0,9238	77,845	5,386	92,389	0,6173	81,536	1,185
1.95	94,278	0,86	64,731	6,818	77,157	6,673	85,723	0,8593

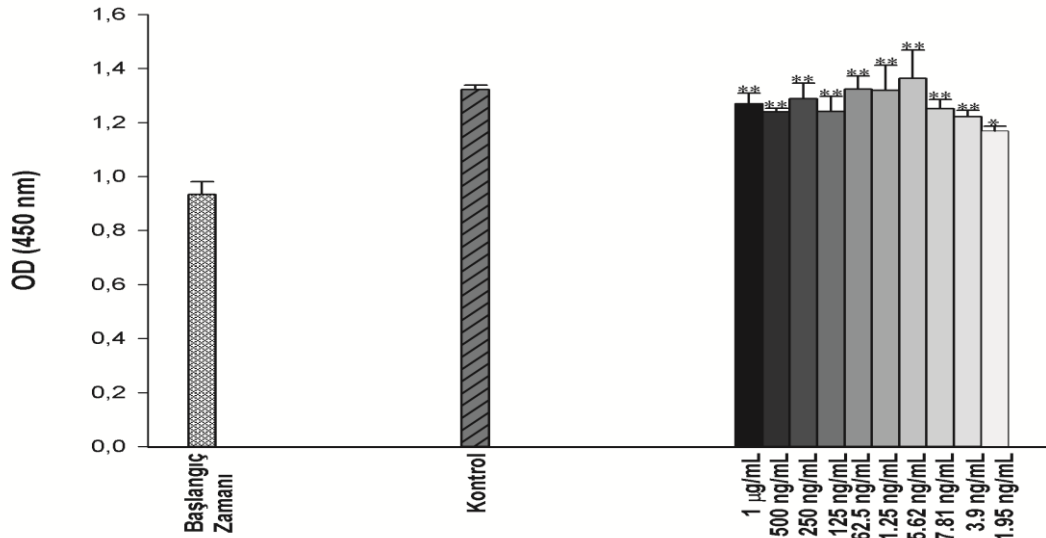
4.3.2. Sertralinin tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Sertralin, 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde denenen hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik ve antiproliferatif etki sergilememektedir (Şekil 4.21).



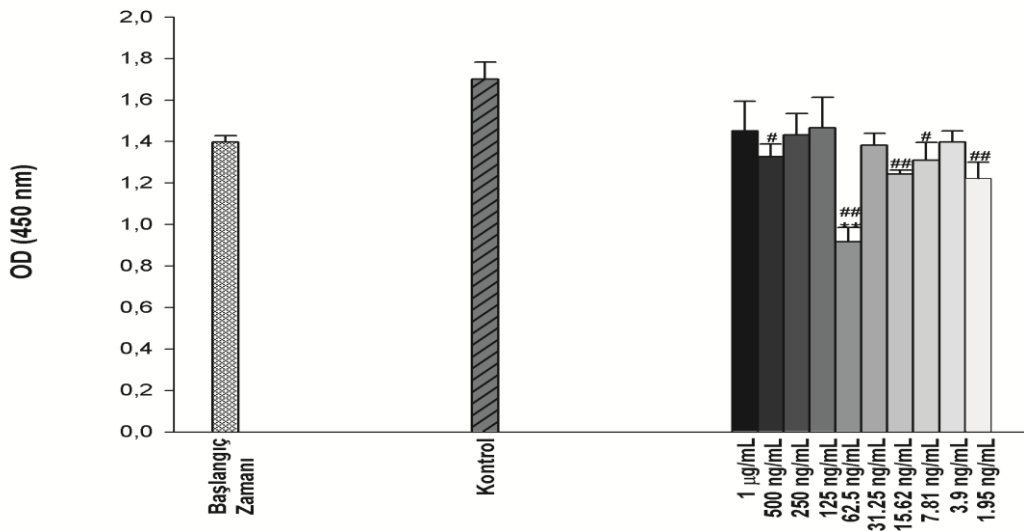
Şekil 4.21. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 6 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksikite ve hücre canlılığına etkisi

Sertralin, 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde denenen tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki sergilemektedir (Şekil 4.22). Başlangıç zamanına oranla hücre canlılığının artmasına sebep olmaktadır.



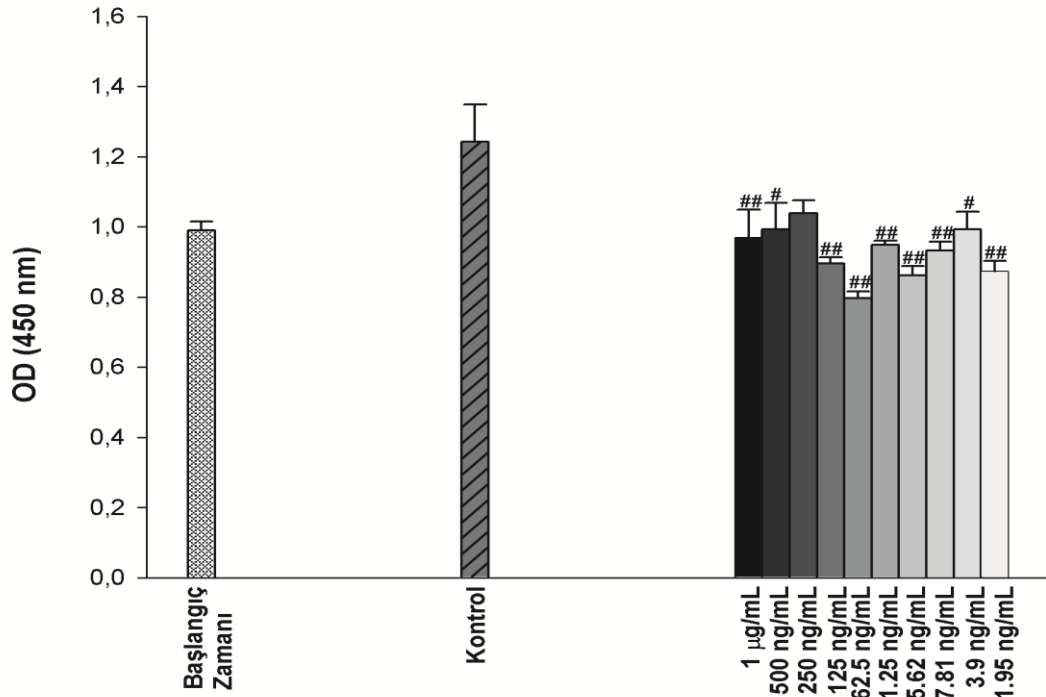
Şekil 4.22. Sertralinin 1000-1.95 ng/ml arasında denenen dozlarının 12 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksik etkisi (**, $p<0.01$; *, $p<0.05$)

Sertralin, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde 62.5 ng/mL dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etkiye sebep olurken, 500, 62.5, 15.62, 7.81 ve 1.95 ng/mL dozlarda antiproliferatif etki sergilemektedir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde sitotoksikite (**, $p<0.01$) ve hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$)

Sertralin, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerinde 250 ng/mL dışındaki tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı antiproliferatif etki sergilememektedir (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. Sertralinin 1000-1.95 ng/mL arasında denenen dozlarının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF7 hücrelerinde hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$)

4.3.2.1. Sertralin' in tek başına MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

İnstat istatistik programında değerlendirilen OD değerleri ve grafiklerden elde edilen verilere dayanarak hücrelerin inkübasyon sürelerine göre yüzde elli ölüm değerleri hesaplanamadığı için, tüm doz ve inkübasyon sürelerinde WST-1 testi sonuçlarını desteklemek amacıyla tripan mavisi testi yapılmıştır. Her bir sayım kendi içerisinde 8 kez yapılmış olup excel programından yararlanılarak yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır.

WST-1 hücre canlılığının belirlenmesi deneyinden elde edilen verilerin doğruluğunun değerlendirilmesi amacıyla yapılan tripan mavisi testinden elde edilen bulgular, toplam hücre sayısının hesaplanabilmesi için kullanılan formülle değerlendirildikten sonra her bir deney için elde edilen veriler instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistik programında her doz ve inkübasyon süresi için elde edilen Ortalama ve SEM değerleri excel programından yararlanılarak (Çizelge 4.8.) aşağıda gösterildiği gibi belirtilmiştir.

Çizelge 4.8. Sertralinin MCF7 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri.

Dozlar	MDA							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-	Ortalama	SEM +/-
1000	84,722	4,923	93,253	0,6152	67,223	7,562	76,555	6,853
500	79,773	5,451	91,28	0,6776	63,91	7,194	74,073	6,402
250	75,834	5,902	89,893	0,8483	70,205	6,695	74,155	6,42
125	79,88	5,461	90,489	0,813	75,625	6,549	72,597	6,914
62.5	81,399	4,74	89,837	0,7101	44,102	8,437	64,363	6,684
31.25	78,438	5,401	89,339	0,992	54,448	8,094	69,53	6,624
15.62	73,975	5,16	84,543	1,36	62,5	7,578	61,423	7,459
7.8	73,633	6,382	90,009	1	60,219	7,317	57,55	7,492
3.9	89,272	2,96	92,152	0,7073	72,124	6,251	64,168	6,673
1.95	73,938	6,414	91,24	0,7843	62,876	7,086	65,932	6,854

4.3.3. Kapasitabin ve Sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-1 testi ile gösterilmesi

Kapasitabin ve sertralin tek başına MCF7 hücrelerinde 1000-1.95 ng/mL dozlarda incelenerek, kombinasyon çalışmalarının devamında kullanılmak üzere; kapasitabin için en etkili sitotoksik etkinin görüldüğü 300, 100, 50, 25 ve 10 ng/ml, sertralin için ise 300, 100, 50, 25, 10 ve 5 ng/mL dozlar belirlendi. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde incelendi. İstatistik programından elde edilen veriler doğrultusunda her bir hücre hattı ve inkübasyon süresini gösteren hücre canlılığı tablosu hazırlandı (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin yüzde canlılık çizelgesi

Dozlar	MCF-7							
	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-
K1	51.457	6.290	33.312	6.920	13.437	1.482	8.478	0.04700
S1	34.572	2.322	16.217	2.935	9.526	0.8440	14.573	3.395
K1S1	31.659	0.5065	13.925	0.3425	7.649	0.2415	9.315	0.6315
K1S2	31.659	3.124	14.375	1.264	7.322	0.05150	9.994	0.6155
K1S3	31.659	0.000	14.439	0.08550	7.494	0.08650	7.926	1.611
K1S4	31.659	4.306	18.445	0.6215	8.183	0.6375	7.989	0.4105
K1S5	31.659	11.735	56.512	1.671	26.753	4.393	7.010	0.06300
K1S6	31.659	9.920	50.836	20.459	33.782	5.048	7.531	0.1105
S1K1	31.659	0.5065	13.925	0.3425	7.649	0.2415	9.315	0.6315
S1K2	31.659	1.013	13.818	0.06450	6.546	0.1380	7.847	0.5210
S1K3	31.659	1.140	13.582	1.114	5.943	0.3270	7.910	2.700
S1K4	31.659	0.2110	13.068	0.5570	5.513	0.1375	5.478	0.07900
S1K5	31.659	0.7175	12.275	0.7500	5.255	0.1895	5.100	0.1425
K2	98.101	6.248	79.992	1.714	60.517	6.322	48.532	2.400
S2	29.844	5.868	11.333	0.5785	4.927	1.034	7.752	1.311
K2S1	28.366	1.013	13.818	0.06450	6.546	0.1380	7.847	0.5210
K2S2	25.581	0.7595	12.789	0.1500	6.891	0.2415	6.094	0.09500
K2S3	59.097	34.952	14.117	0.6640	6.891	0.2065	6.284	0.1575
K2S4	53.061	4.686	37.618	3.599	18.105	4.152	6.489	0.2050
K2S5	89.532	0.4645	91.881	3.278	111.16	6.426	97.537	17.872
K2S6	66.864	9.625	73.308	30.720	90.336	13.092	85.712	16.056
S2K1	30.055	3.124	14.375	1.264	7.322	0.05150	9.994	0.6155
S2K2	25.581	0.7595	12.789	0.1500	6.891	0.2415	6.094	0.09500
S2K3	28.029	2.449	12.233	1.093	5.978	0.01750	6.963	0.1425
S2K4	25.074	0.3380	11.675	0.3640	5.788	0.06900	5.573	0.4580
S2K5	24.314	1.520	11.333	0.4495	5.220	0.01750	5.147	0.1580

Çizelge 4.9.'un devamı

MCF-7								
Dozlar	6. saat		12. saat		24. saat		48. saat	
	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-	Mean	SEM +/-
K3	78.726	22.415	94.238	5.720	100.26	2.515	81.844	22.450
S3	23.301	3.546	10.990	0.06450	4.531	0.5685	5.242	1.453
K3S1	28.071	1.140	13.582	1.114	5.943	0.3270	7.910	2.700
K3S2	28.029	2.449	12.233	1.093	5.978	0.01750	6.963	0.1425
K3S3	25.918	0.4220	11.997	0.8995	5.754	0.06900	5.984	0.07900
K3S4	63.234	1.351	48.072	4.627	11.456	0.01750	5.573	0.3630
K3S5	92.951	3.462	106.47	2.742	111.27	4.462	102.23	13.341
K3S6	74.251	21.908	96.594	15.360	95.900	10.801	109.66	0.7260
S3K1	26.762	0.000	14.439	0.08550	7.494	0.08650	7.926	1.611
S3K2	59.097	34.952	14.117	0.6640	6.891	0.2065	6.284	0.1575
S3K3	25.918	0.4220	11.997	0.8995	5.754	0.06900	5.984	0.07900
S3K4	24.145	0.1690	11.119	0.02150	5.409	0.06900	5.700	0.3315
S3K5	23.048	0.000	46.144	33.933	5.237	0.06900	5.100	0.07850
K4	114.44	8.569	101.20	0.2145	110.37	0.1205	104.48	0.09450
S4	24.188	0.04250	11.311	0.2140	5.048	0.01750	4.974	0.04750
K4S1	26.045	0.2110	13.068	0.5570	5.513	0.1375	5.478	0.07900
K4S2	25.074	0.3380	11.675	0.3640	5.788	0.06900	5.573	0.4580
K4S3	24.145	0.1690	11.119	0.02150	5.409	0.06900	5.700	0.3315
K4S4	68.975	0.2535	47.258	1.671	13.075	3.394	5.921	0.1425
K4S5	100.21	6.585	120.65	5.870	113.25	4.307	117.38	0.1420
K4S6	82.609	10.427	107.18	12.747	104.41	5.426	113.34	0.4895
S4K1	41.368	4.306	18.445	0.6215	8.183	0.6375	7.989	0.4105
S4K2	53.061	4.686	37.618	3.599	18.105	4.152	6.489	0.2050
S4K3	63.234	1.351	48.072	4.627	11.456	0.01750	5.573	0.3630
S4K4	68.975	0.2535	47.258	1.671	13.075	3.394	5.921	0.1425
S4K5	64.542	4.432	55.463	1.607	8.872	1.086	5.226	0.01600
K5	104.56	7.387	112.51	2.400	98.347	1.706	106.62	2.542
S5	(**) 54.031	11.313	80.806	15.082	(*) 57.589	25.961	47.143	41.554
K5S1	(**) 26.805	0.7175	(**) 12.275	0.7500	(**) 5.255	0.1895	(**) 5.100	0.1425
K5S2	(**) 24.314	1.520	(**) 11.333	0.4495	(**) 5.220	0.01750	(**) 5.147	0.1580
K5S3	(**) 23.048	0.000	46.144	33.933	(**) 5.237	0.06900	(**) 5.100	0.07850
K5S4	(**) 64.542	4.432	55.463	1.607	(**) 8.872	1.086	(**) 5.226	0.01600
K5S5	97.299	2.153	102.89	5.977	116.97	7.511	120.87	4.547
K5S6	95.863	2.237	95.459	9.255	109.30	1.947	112.44	2.526
S5K1	59.941	11.735	(**) 56.512	1.671	(**) 26.753	4.393	(*) 7.010	0.06300
S5K2	89.532	0.4645	91.881	3.278	111.16	6.426	97.537	17.872
S5K3	92.951	3.462	106.47	2.742	111.27	4.462	102.23	13.341
S5K4	100.21	6.585	120.65	5.870	113.25	4.307	117.38	0.1420
S5K5	97.299	2.153	102.89	5.977	116.97	7.511	120.87	4.547

4.3.3.1. Kapasitabin ve Sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

WST-1 hücre canlılığının belirlenmesi deneyinden elde edilen verilerin doğruluğunun değerlendirilmesi amacıyla yapılan tripan mavisi testinden elde edilen bulgular, toplam hücre sayısının hesaplanabilmesi için kullanılan formülle değerlendirildikten sonra her bir deney için elde edilen veriler instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilmiştir. İstatistik programında her doz ve 6 saatlik inkübasyon süresi için elde edilen Ortalama ve SEM değerleri excel programından yararlanılarak (Çizelge 4.10.) aşağıda gösterildiği gibi belirtilmiştir.

Çizelge 4.10. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresinde tripan mavisi testi ile belirlenen sitotoksik etkilerinin Ortalama ve SEM değerleri

MCF7		
Dozlar	6. saat	
	Ortalama	SEM +/-
K5	101,96	2,218
S3	86,33	1,363
K5S3	52,116	2,438

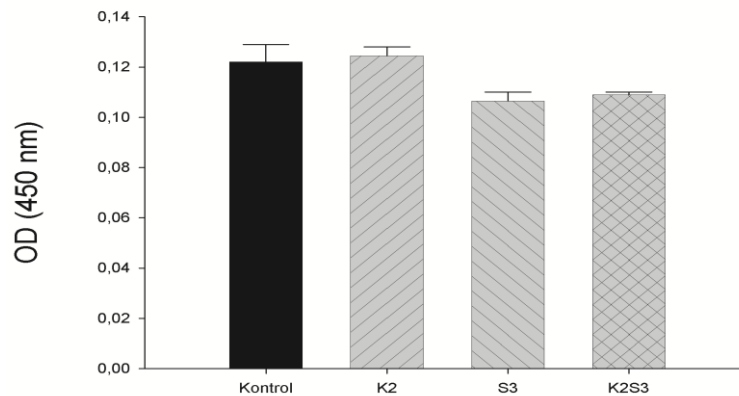
4.4. Apoptozis Testleri

MDAMB-231 ve MCF7 hücrelerinde apoptoz varlığının araştırılması için kaspaz-3,-8-9 ve DNA fragmentasyon miktarlarında meydana gelen değişim incelenmiştir.

4.4.1. MDAMB-231 hücrelerinde apoptozis testleri

4.4.1.1. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi

Kaspaz-3 elisa kiti kullanılarak MDAMB-231 hücrelerinin apoptoz mekanizmasında yer alan kaspaz-3 miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbans değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.



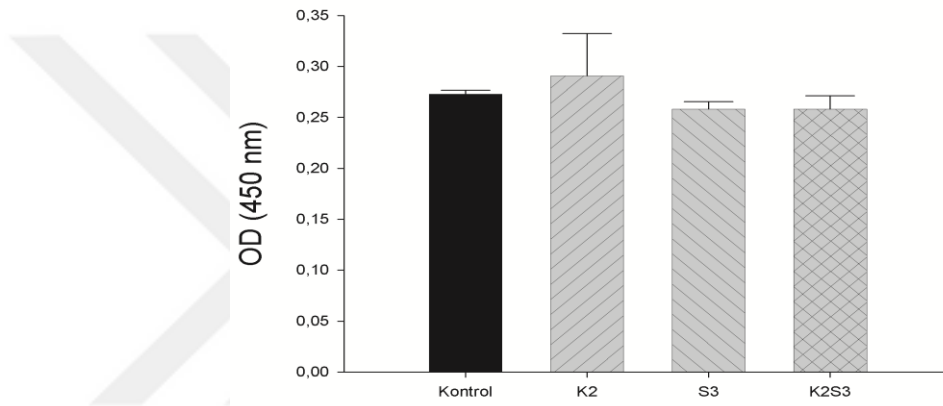
Şekil 4.25. 100 ng/ml kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.25’den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231

hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla kaspaz-3 enzim miktarında 1,02 kat artırırken, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,13 kat ve kombinasyonlarının uygulaması 0,106 kat azalmaya sebep olmaktadır.

4.4.1.2. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-8 elisa kiti ile gösterilmesi

Kaspaz-8 elisa kiti kullanılarak MDAMB-231 hücrelerinin apoptoz mekanizmasında yer alan kaspaz-8 miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbans değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.

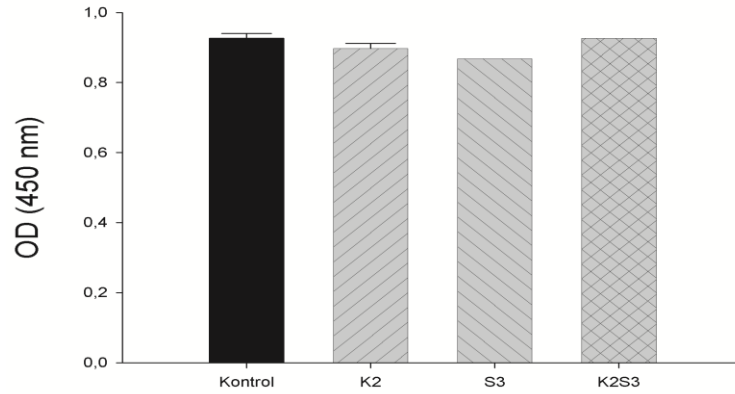


Şekil 4.26. 100 ng/mL kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-8 miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.26'den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla kaspaz-8 enzim miktarında 1,065 kat artırırken, sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarının uygulaması kontrole kıyasla 0,054 kat azalmaya sebep olmaktadır.

4.4.1.3. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-9 elisa kiti ile gösterilmesi

Kaspaz-9 elisa kiti kullanılarak MDAMB-231 hücrelerinin apoptoz mekanizmasında yer alan kaspaz-9 miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbans değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.

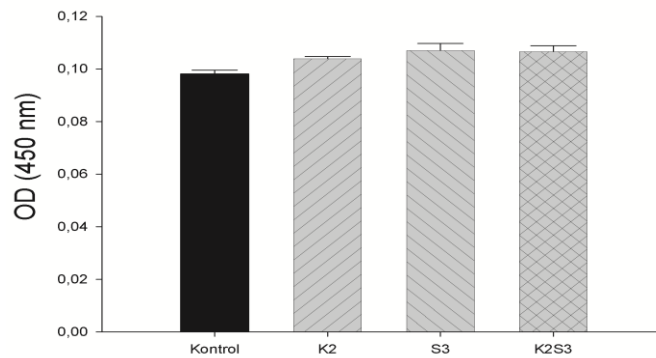


Şekil 4.27. 100 ng/mL kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki kaspaz-9 miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.27’den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla kaspaz-9 enzim miktarında 0,031, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,062 azaltırken, kombinasyonlarının uygulaması kontrole kıyasla değişikliğe sebep olmamaktadır.

4.4.1.4. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin DNA fragmentasyon elisa kiti ile gösterilmesi

DNA fragmentasyon elisa kiti kullanılarak MDAMB-231 hücrelerinin apoptoz mekanizması sonucu meydana gelen DNA fragmentasyonu miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbans değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.



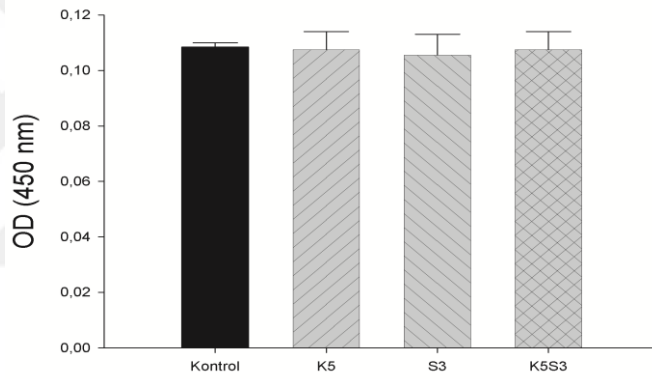
Şekil 4.28. 100 ng/mL kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDAMB-231 hücrelerindeki DNA fragmentasyon miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.28'den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla DNA fragmentasyon miktarında 1,06, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 1,091 ve kombinasyonlarının uygulaması 1,087 kat artmasına sebep olmaktadır.

4.4.2. MCF7 hücrelerinde apoptozis testleri

4.4.2.1. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-3 elisa kiti ile gösterilmesi

Kaspaz-3 eliza kiti kullanılarak MCF7 hücrelerinin apoptoz mekanizmasında yer alan kaspaz-3 miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbens değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbens değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.

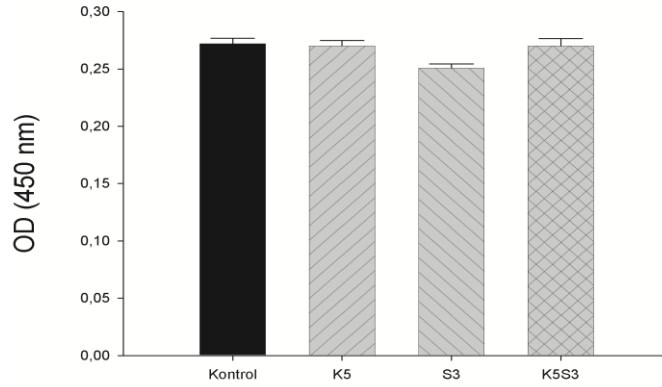


Şekil 4.29. 10 ng/mL kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.29'den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla kaspaz-3 enzim miktarında 0,009, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,028 ve kombinasyonlarının uygulaması 0,009 kat azalmaya sebep olmaktadır.

4.4.2.2. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-8 elisa kiti ile gösterilmesi

Kaspaz-8 eliza kiti kullanılarak MCF7 hücrelerinin apoptoz mekanizmasında yer alan kaspaz-8 miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbens değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbens değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.

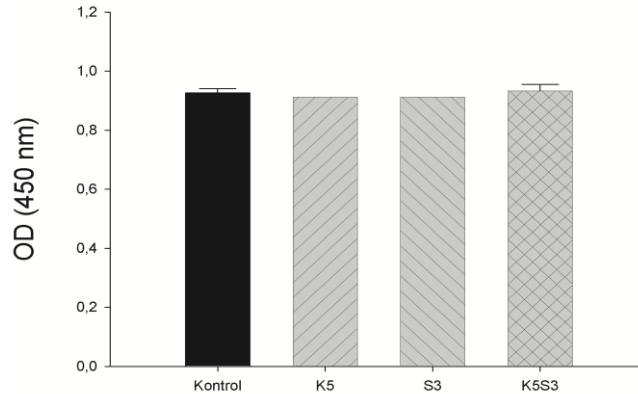


Şekil 4.30. 10 ng/mL kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki kaspaz-8 miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.30'den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla kaspaz-8 enzim miktarında 0,007, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,078 ve kombinasyonlarının uygulaması 0,007 kat azalmaya sebep olmaktadır.

4.4.2.3. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin kaspaz-9 elisa kiti ile gösterilmesi

Kaspaz-9 eliza kiti kullanılarak MCF7 hücrelerinin apoptoz mekanizmasında yer alan kaspaz-9 miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbens değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbens değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.

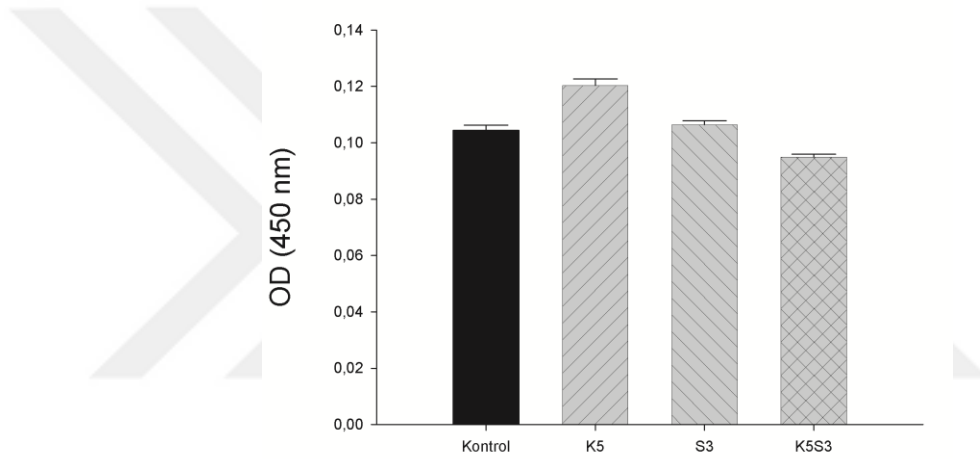


Şekil 4.31. 10 ng/mL kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki kaspaz-9 miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.31’den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) ve sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla kaspaz-9 enzim miktarında 0,016, kombinasyonlarının uygulaması 1,008 kat artmaya sebep olmaktadır.

4.4.2.4. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin DNA fragmentasyon elisa kiti ile gösterilmesi

DNA fragmentasyon elisa kiti kullanılarak MCF7 hücrelerinin apoptoz mekanizması sonucu meydana gelen DNA fragmentasyonu miktarındaki değişim gösterilmiştir. Sonucunda elde edilen absorbans değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir.



Şekil 4.32. 10 ng/mL kapasitabin, 50 ng/mL sertralin ve kombinasyonlarının (K2S3), 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF7 hücrelerindeki DNA fragmentasyon miktarı ($p>0.05$)

Şekil 4.32’den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla DNA fragmentasyon miktarında 1,152 ve sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 1,019 kat artmasına sebep olurken, kombinasyonlarının uygulaması 0,09 kat azalmaya sebep olmaktadır.

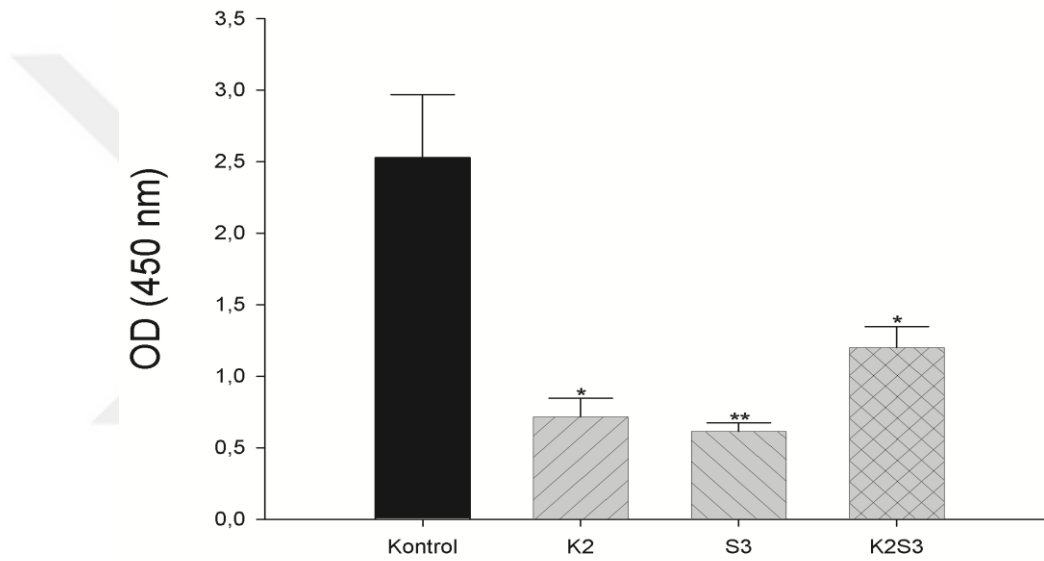
4.5. Otofaji Testleri

MDAMB-231 ve MCF7 hücrelerinde otofaji varlığının araştırılması için, otofajinin ana mekanizmasında yer alan mTOR miktarlarındaki değişim incelenmiştir.

4.5.1. MDA otofaji testleri

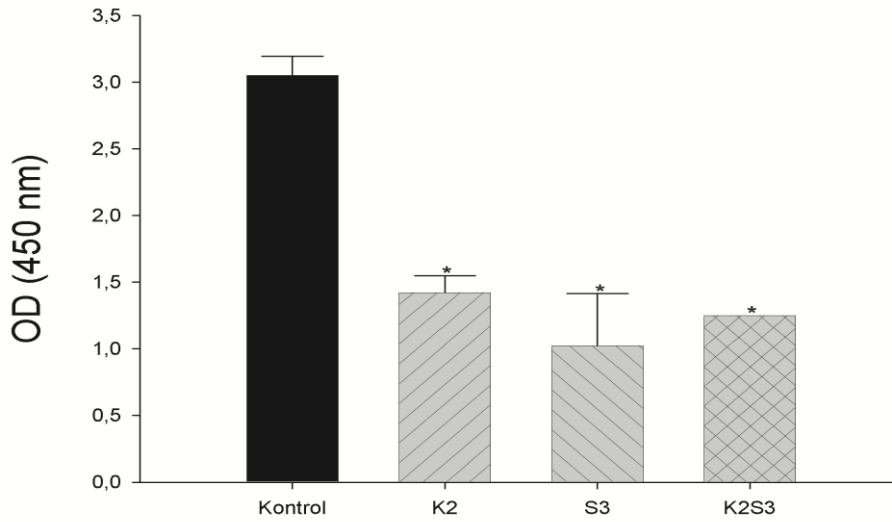
4.5.1.1. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin mTOR elisa kiti ile gösterilmesi

mTOR elisa kiti kullanılarak MDAMB-231 hücrelerinin otofaji mekanizmasında yer alan mTOR miktarındaki değişim gösterilmiştir. Otofaji varlığının araştırılması için, hücre ekstraktlarından elde edilen örneklerle hücre süpernetantından elde edilen mTOR miktarındaki değişim ayrı ayrı incelenmiştir. Deney sonuçlarının absorbans değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir (Şekil 4.33, 4.34).



Şekil 4.33. Hücre ekstraktlarından elde edilen örneklerin 12 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı (**, $p < 0,01$; *, $p < 0,05$)

Şekil 4.33'den de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,045, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,11 ve kombinasyonlarının uygulaması 0,06212 kat azalmaya sebep olmaktadır.



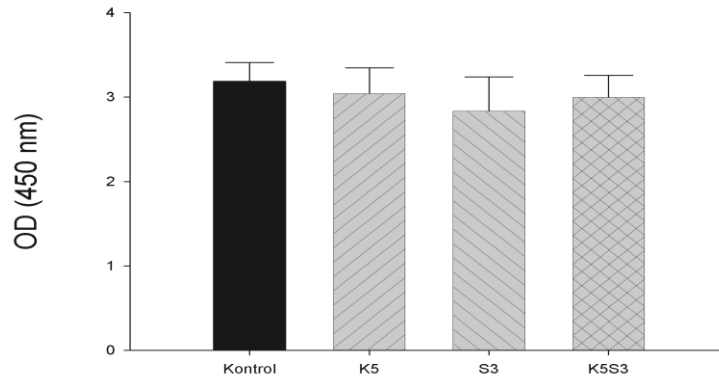
Şekil 4.34. Hücre süpernatantından elde edilen örneklerin 12 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı (*, $p < 0,05$)

Şekil 4.34'ten de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,8, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla mtor miktarında 0,725 ve kombinasyonlarının uygulaması 0,775 kat azalmaya sebep olmaktadır.

4.5.2. MCF7 otofaji testleri

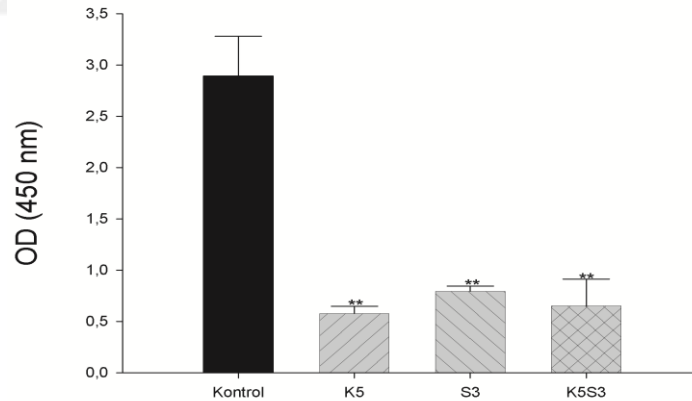
mTOR elisa kiti kullanılarak MCF7 hücrelerinin otofaji mekanizmasında yer alan mTOR miktarındaki değişim gösterilmiştir. Otofaji varlığının araştırılması için, hücre ekstraktlarından elde edilen örneklerle hücre süpernetantından elde edilen mTOR miktarındaki değişim ayrı ayrı incelenmiştir. Deney sonuçlarının absorbans değerine göre spektrofotometrede okuma alınmıştır. Elde edilen absorbans değerleri öncelikle instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, Sigma plot 10.0 programından yararlanılarak grafiklendirilmiştir (Şekil 4.33, 4.34).

4.5.2.1. Kapasitabin ve sertralinin tek başına ve kombinasyonunun MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin mTOR elisa kiti ile gösterilmesi



Şekil 4.35. Hücre ekstraktlarından elde edilen örneklerin 6 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı (**, $p<0,01$; *, $p<0,05$)

Şekil 4.35'ten de anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,717, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla mtor miktarında 0,757 ve kombinasyonlarının uygulaması 0,525 kat azalmaya sebep olmaktadır.



Şekil 4.36. Hücre süpernetantından elde edilen örneklerin 6 saatlik inkübasyon süresi sonundaki mtor miktarı (**, $p<0,01$)

Şekil 4.36'dan da anlaşılacağı gibi; kapasitabin (100 ng/mL), sertralin (50 ng/mL) ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. MDAMB-231 hücrelerinde kapasitabin (100 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla 0,533, sertralin (50 ng/mL) uygulaması kontrole kıyasla mtor miktarında 0,664 ve kombinasyonlarının uygulaması 0,59 kat azalmaya sebep olmaktadır.

5. TARTIŞMA

Kanser, dünya genelinde ölüm nedenleri arasında ikinci sırada yer almaktadır ve kadınlarda ölüme neden olan en yaygın kanser türü meme kanseridir (Seymen vd. 2019). Kanser teşhisi konulan hastalarda; iyileşememe düşüncesi, fiziksel değişikliklerin meydana gelmesi ve ölüm korkusu gibi birçok endişe meydana gelmektedir. Bireyde oluşan bu kaygılar, psikolojik bozuklukları da beraberinde getirmektedir. En yaygın görülen duygu durum bozuklukları, anksiyete ve depresyondur. Depresyon kanserle eş zamanlı olarak kendisini gösteren bir hastalık olduğu için eğer ihmal edilirse her iki hastalığın seyrini de olumsuz etkilemektedir (Thakur vd. 2021). Diğer hastalık teşhislerine kıyasla, kanser teşhisi konulan hastalarda daha yüksek oranda depresyon görülmektedir (Smith vd. 2015). Onkoloji birimlerinde kanser tedavisi gören hastalarda, kemoterapi ile birlikte depresyonla mücadele edebilmek için SSRI grubu antidepressanlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Matuo vd. 2009).

Meme kanserinde, ameliyat öncesi ve sonrası dönemlerde, kemoterapi yaygın olarak kullanılmaktadır. Kemoterapötik bir ajan olan kapasitabin, birçok kemoterapötik ajana yanıt vermeyen kanser hastalarında ön ilaç olarak kullanılmaktadır (Övey ve Güler 2020). Kapasitabin, timidin fosforilaz (TP) tarafından 5-florourasile dönüştürülmekte ve daha sonra tümör dokusunda yoğunlaşmaktadır (Pitts vd. 2020). TP, vücuttaki birçok dokuda düşük, çoğu tümör dokusunda ise yüksek konsantrasyonlarda eksprese edilmektedir. Bu nedenle tümör hücrelerinde 5-FU birikimi meydana gelmektedir (Focaccetti vd. 2015). Kanser hücrelerinde yoğun olarak ifade edilen timidin fosforilaz (TP), MDAMB-231 ve MCF7 hücrelerinde yok denilecek kadar az miktarda ifade edilmekte ve düşük sitotoksikite göstermektedir (Terranova-Barberio vd. 2016).

Övey ve Güler'in 2020 yılında yaptığı çalışmada, kapasitabinin 2µM konsantrasyonda uygulanması sonucu MCF7 hücreleri üzerinde meydana getirdiği sitotoksik ve apoptotik etkiler incelenmiştir. Bu çalışmada kapasitabin'in MCF7 hücrelerinde 24 saatlik inkübasyon süresinde ve 2µM konsantrasyonda kaspaz-3 ve -9 aracılı apoptotik etki gösterdiği belirlenmiştir (Övey ve Güler 2020). Yapılan başka bir çalışmada ise kapasitabin'in MCF7 hücreleri üzerinde 72 saatlik inkübasyon süresi sonrasında farklı dozlardaki (5- 0,3 mg/mL) sitotoksik etkileri araştırılmış ve ilacın en düşük doz olan 0.3 mg/mL dışındaki tüm dozlarda sitotoksik olduğu belirtilmiştir (Khvatova ve Semeikin 2011). Pitts ve arkadaşlarının 2020 yılında yapmış olduğu çalışmada, kapasitabinin MDAMB-231 hücrelerindeki sitotoksik ve apoptotik etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hiçbir dozda (7.5, 15 ve 30 µM) apoptotik etki görülmemiştir (Pitts vd. 2020).

Çalışmamızda, 1000 ve 1.95 ng/mL arasındaki dozlarda yarı yarıya sulandırılarak hazırlanan kapasitabinin MCF7 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 6, 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde incelenmiştir. Kapasitabin, MCF7 hücrelerinde 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda hiçbir dozda sitotoksik değilken, 3.9 ve 1.95 ng/mL dozlarda antiproliferatif etki göstermektedir. 12 saatlik inkübasyon süresi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik ve antiproliferatif bir etki yaratmamış, aksine hücrelerin çoğalmasına sebep olmuştur. 24 saatlik inkübasyon süresinde ise hiçbir dozda sitotoksik değilken; 1000, 62.5, 15.62, 7.81 ve 1.95 ng/mL dozlarda antiproliferatif etki göstermektedir. Son inkübasyon süresi olan 48 saat sonunda ise 125 ve 62.5 ng/mL dozlarda sitotoksik, 125, 62.5, 15.62, 7.81, 3.9 ve 1.95 ng/mL dozlarda antiproliferatif

etki göstermektedir. Çalışmamızda elde etmiş olduğumuz bu bulgular, Terranova-Barberio ve arkadaşlarının 2016 yılında yapmış oldukları çalışmanın sonuçları ile uyumludur (Terranova-Barberio vd. 2016).

Kapasitabin, MDAMB-231 hücrelerinde; 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda hiçbir dozda sitotoksik değilken, 7.81 ng/mL hariç tüm dozlarda antiproliferatif etki göstermektedir. Ayrıca kapasitabin; 12, 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki sergilememiş ancak ilaç, tüm dozlarda antiproliferatif etkili bulunmuştur.

Kapasitabin, meme epitel hücresi olan MCF10A hücrelerinde; 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda 250, 31.25, 7.81 ve 1.95 ng/mL dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik, 500 ng/mL'de ise antiproliferatif etki meydana getirmiştir. 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda 62.5 ve 15.62 ng/mL'de sitotoksik, 125, 62.5, 31.25, 15.62, 7.81 ve 1.95 ng/mL dozlarda ise antiproliferatif etki göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 1000, 500, 250 ve 62 ng/mL'de sitotoksik, 31 ng/mL dışındaki tüm dozlarda antiproliferatif etki sergilemiştir. Son inkübasyon süresi olan 48 saat sonunda ise 15 ng/mL dışındaki tüm dozlarda sitotoksik ve tüm dozlarda antiproliferatif etki gözlenmiştir.

Elde ettiğimiz bulgular birlikte değerlendirildiğinde; kapasitabin, MCF7 hücrelerinde sadece 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 125 ve 62.5 ng/mL dozlarda sitotoksik bulunmuştur. MDAMB-231 hücrelerinde hiçbir dozda ve inkübasyon süresi sonunda sitotoksik etki görülmemiştir. Kanseri hücre hatlarında uygulanan dozlarda sitotoksik etki göstermeyen kapasitabin, MCF10A hücrelerinde çeşitli dozlarda sitotoksik ve antiproliferatif etkiler sergilemiştir. Bu sonuçlar uygulamış olduğumuz doz aralığında kapasitabin'in seçici sitotoksik etki yaratmadığını net bir biçimde ortaya koymaktadır.

Depresyon tedavisinde kullanılan en yaygın SSRI grubu antidepresan sertralindir. Biyotransformasyonu yavaş olan bu ilaç, 4-8 saat içerisinde plazmada en yüksek seviyesini göstermekte olup ana metaboliti olan N-desmetil-sertralin seviyesi de ilk 8 saat içerisinde artmaktadır (Mandrioli vd. 2012). Depresyon tedavisi için kullanılan antidepresanlar, onkoloji birimlerinde kanser hastalarında meydana gelen depresyonun tedavisi için de verilmektedir. Ek olarak antidepresan ilaçların, kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etki sergilediklerini işaret eden çalışmalar da bulunmaktadır (Chen vd. 2019; Zhou vd. 2012).

Kanser hücrelerinde sertralin ile yapılan çalışmalarda, sertralinin birçok farklı kanser tipinde sitotoksik etki meydana getirdiği belirtilmektedir. Chinnapaka ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı çalışmada sertralinin PC3, DU145 ve LNCaP hücreleri üzerinde 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda farklı dozlardaki (1-100 µM) sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar sertralinin prostat kanserini güçlü bir şekilde inhibe ettiğini, apoptoz ve otofaji yolağını indüklediğini göstermektedir (Chinnapaka vd. 2020). Chen ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı çalışmada ise sertralinin HepG2 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelenerek 7.5 ve 15 µM konsantrasyonda uygulanan sertralinin, hücre canlılığını sırasıyla yaklaşık %15 ve %80 oranında azalttığı ve kaspaz3 artışına bağlı olarak apoptozu indüklediği belirtilmiştir (Chen vd. 2020). HepG2 ile yapılan başka bir çalışmada sertralin (50 µM), 6 saatlik

inkübasyon sonrasında kaspaz-3 ve -9 aracılı apoptozu tetiklemektedir (Chen vd. 2014). Kapasitabinin ana metaboliti olan 5FU ve antidepresan olan sertralin'in kolon kanserinde tek başına kullanımlarının karşılaştırıldığı bir çalışmada, sertralin'in 5-FU'ya kıyasla daha sitotoksik olduğu ve hücre canlılığını daha çok inhibe ettiği belirlenmiştir (Gil-Ad 2008). Astrositler ile yapılan bir çalışmada ise sertralinin farklı dozlarda (10-40 μ M), 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücrelerde kaspaz aracılı apoptozu tetiklediği gösterilmiştir (Then 2017).

Literatürde, sertralinin kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin belirlenmesi amacıyla birçok çalışma yer almaktadır. Yapılan literatür taramasında, sertralinin MCF7 ve MDAMB-231 meme kanseri hücrelerindeki sitotoksik etkilerine dair yapılmış *in vitro* sadece bir çalışma bulunmaktadır. Gwynne ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptığı çalışmada SSRI grubu antidepresanlar ve sertralin, içlerinde MCF7 hücrelerinin de olduğu 9 farklı meme kanser hücre hattında uygulanmıştır. Yapılan çalışmada sertralin'in SERT reseptörünü hedef aldığı ve MDAMB-231 hücrelerinde MCF7'ye göre daha fazla ifade edildiği belirtilmiş ve bunun yanı sıra hücre canlılığının yarısını öldüren doz da (IC_{50}) tespit edilmiştir. IC_{50} değerleri; MCF7 ve MDAMB-157 hücrelerinde 2.4 μ M, MDAMB-453 ve MDAMB-361 hücrelerinde ise sırasıyla 1.9 ve 1.4 μ M dozlar olarak belirlenmiştir (Gwynne vd. 2017).

Çalışmamızda sertralinin MCF7 hücrelerinde 6, 12 ve 48 saatlik inkübasyonlarda uygulanan hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik ve/veya antiproliferatif etki göstermediği aksine, 12 saatlik inkübasyon süresinde hücre sayısında artışa sebep olduğu gösterilmiştir. Sertralin, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 62.5 ng/mL'de sitotoksik; 500, 62.5, 15.62, 7.81 ve 1.95 ng/mL'lik dozlarda ise antiproliferatif etki göstermiştir.

Sertralin, MDAMB-231 hücrelerinde tüm dozlarda ve inkübasyon sürelerinde antiproliferatif, 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda 31.25 ve 3.9 ng/mL dışındaki tüm dozlarda ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 125 ng/mL dışındaki tüm dozlarda sitotoksik etki sergilemiştir. 12 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise hiçbir inkübasyon süresinde sitotoksik bulunmamıştır. Sertralin'in MDAMB-231 hücrelerinde MCF7 hücrelerine kıyasla daha fazla sitotoksik ve antiproliferatif etki göstermesinin sebebi Gwynne ve arkadaşlarının 2017 yılında yapmış oldukları çalışmada vurguladıkları gibi, sertralin'in hedef aldığı SERT reseptörünün MDAMB-231 hücrelerinde daha fazla ifade edilmesi olabilir (Gwynne vd. 2017).

MCF10A hücrelerindeki sertralin muamelesi sonucu; 6 saatlik inkübasyonda hiçbir dozda sitotoksik etki görülmezken 31.25 ng/mL'de antiproliferatif etki göstermiştir. 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda hiçbir dozda sitotoksik ve antiproliferatif etki görülmemiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise hiçbir dozda sitotoksik etki saptanmamış ancak tüm dozlarda ilaç antiproliferatif etki sergilemiştir. Son inkübasyon süresi olan 48 saat sonunda; 31.25, 15.62, 7.81, 3.95 ve 1.95 ng/mL dozlarda sitotoksik, tüm dozlarda ise antiproliferatif olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda kontrol hücre grubu olarak kullandığımız MCF10A hücrelerinde kapasitabin, her inkübasyon süresinde ve farklı dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etkiler sergilemiştir. Sertralin uygulaması sonrasında 6, 12 ve 24 saatlik inkübasyon sürelerinde hücrelerde herhangi bir sitotoksik etki saptanmamıştır. Ancak 48

saatlik inkübasyon süresinin ardından 31.25 ng/mL ve daha düşük dozlarda istatistiksel olarak anlamlı sitotoksik etki olduğu belirlenmiştir. Her iki ajanın meme epitel hücreleri üzerindeki etkileri incelendiğinde, sertralin'in kapasitabin'e göre daha az sitotoksik etkiye sebep olduğu görülmektedir. Antikanser çalışmalarında sıklıkla görülen yan etkiler göze alındığında, antidepresan olan sertralin'in meme kanserinde sitotoksik etki göstermekle birlikte, kemoterapide yaygın görülen olası yan etkileri de daha az gösterebileceği düşünülebilir.

Kapasitabin'in MCF7 ve MDAMB-231 hücrelerindeki etkileri, WST-1 hücre canlılığını belirleme testini doğrulamak amacıyla yapılan tripan mavisi testi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, kapasitabin'in 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda 3.9 ve 1.95 ng/mL, 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 1.95 ng/mL dozda WST ile uyumlu antiproliferatif etki sergilediğini göstermiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 1000, 62.5, 15.62, 7.8 ve 1.95 ng/mL dozlarda WST ile uyumlu antiproliferatif etki saptanmıştır. MDAMB-231 hücrelerindeki etkileri ise; 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda 15.62, 3.9 ve 1.95 ng/mL dozlarda, WST ile uyumlu olarak, hücre canlılığında azalmaya sebep olmuştur. 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda 31.25, 15.62, 7.81, 3.9 ve 1.95 ng/mL dozlarda sitotoksik etki gösterirken, 24 saatlik inkübasyon sonrasında 31.25 ve 15.62 ng/mL dozlar dışındaki tüm dozlarda antiproliferatif etki sergilemiştir. Son inkübasyon süresi olan 48 saatin sonrasında, WST uyumlu olarak tüm dozlarda antiproliferatif etki olduğu tespit edilmiştir.

Sertralin'in MCF7 ve MDAMB-231 hücrelerindeki etkileri, WST-1 hücre canlılığını belirleme testini doğrulamak amacıyla yapılan tripan mavisi testi ile değerlendirilmiştir. Sertralin MCF7 hücrelerinde; 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda WST-1'de olduğu gibi tüm dozlarda, 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise sadece 15.62, 7.8 ve 1.95 ng/mL'lik dozlarda antiproliferatif etki sergilemiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 250, 125 ve 3.9 ng/mL dışındaki tüm dozlarda, WST-1 ile uyumlu olarak, hücrelerde antiproliferatif etkiye neden olmuştur. Son inkübasyon süresi olan 48 saat sonunda ise 62.5 ng/mL ve daha düşük dozlarda antiproliferatif etki olduğu saptanmıştır.

WST testine paralel olarak, Sertralin MDA hücrelerinde; 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda 62.5 ng/mL ve daha düşük dozlarda, 12 saatlik inkübasyon süresinde ise tüm dozlarda antiproliferatif etki sergilemiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 250, 125, 62.5 ve 15.62 ng/mL, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 1.95 ng/mL dışındaki tüm dozlarda antiproliferatif etki olduğu saptanmıştır.

Yapılan detaylı literatür taraması sonucu, meme kanserinde hiç çalışılmamış olmasına rağmen farklı kanser hücrelerinde sertralin ile antikanser bir ajanın kombine edildiği iki çalışmanın varlığı tespit edilmiştir. Tzadok ve arkadaşlarının 2010 yılında U87 hücreleri ile yapmış olduğu çalışmada, sertralin/temozolomid ve sertralin/imatinib kombinasyonlarının etken maddelerin tek kullanımlarına kıyasla hücre canlılığının daha çok azalmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Tzadok vd. 2010). Yapılan diğer çalışmada ise, küçük hücreli akciğer kanserinde sertralin/erlotinib kombinasyonunun etken maddelerin tek kullanımlarına kıyasla hücre canlılığını daha çok azalttığı ve otofaji yolağını tetiklediği belirtilmiştir (Jiang vd. 2018). Literatürde, meme kanseri hücrelerinde sertralin ile yapılmış herhangi bir kombinasyon çalışması yer almamaktadır. Bu nedenle

çalışmamız Sertalin/kapasitabin kombinasyonuna dair literatürdeki ilk çalışma niteliğini taşımaktadır.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler, MDAMB-231 hücrelerinde 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda, etken maddelerin tek kullanıldığı sonuçlara kıyasla sertralin/kapasitabin kombinasyonunun hücre canlılığını daha çok azalttığını göstermektedir. Kapasitabin 100 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı; %110.11, sertralin 50 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında ise hücre canlılığı %43.25 olarak hesaplanmıştır. Sertralin/kapasitabin kombinasyonunda (K2S3) ise hücre canlılığı %35.80 olarak belirlenmiştir. MCF7 hücrelerinde 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda da etken maddelerin tek kullanıldığı sonuçlara kıyasla sertralin/kapasitabin kombinasyonu hücre canlılığının daha çok azalmasına sebep olmuştur. Kapasitabin 10 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı; %104.56 iken, sertralin 50 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı %23.30, sertralin/kapasitabin kombinasyonunda (K5S3) ise hücre canlılığı %23.04 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubu olan MCF10A hücrelerinde K2S3 ve K5S3 kombinasyonlarının uygulandığı hücrelerde canlılık sırasıyla; %80.12 ve %70 oranında saptanmıştır. Yapılan kombinasyonlar sonucu meme epitel hücrelerine zarar vermeyen bu kombinasyonlar en etkili dozlar olarak belirlenmiş ve daha sonraki deneylerde bu inkübasyon süreleri ve dozlar kullanılmıştır.

Sertralin/kapasitabin kombinasyonunun MCF7 ve MDAMB-231 hücreleri üzerindeki etkileri tripan mavisi ile değerlendirilmiştir. MDA hücrelerinde 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda kapasitabinin 100 ng/mL konsantrasyonda uygulanması sonucu hücre canlılığı %96.338, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonda uygulanması sonucu hücre canlılığı %82.543 ve kombinasyonlarının uygulanması sonucu ise hücre canlılığı %53.819 oranında saptanmıştır. WST-1 ile elde etmiş olduğumuz sonuçlarda kapasitabin 100 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı %110.11, sertralin 50 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı %43.251 ve kombinasyonlarının uygulanması sonucu ise hücre canlılığı %35.802 oranında saptanmıştır. MCF7 hücrelerinde ise 6 saatlik inkübasyon süresi sonunda kapasitabin 10 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı %101.96, sertralin 50 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı %86.33 ve kombinasyonları uygulandığında ise hücre canlılığı %52.116 oranında saptanmıştır. WST-1 ile elde etmiş olduğumuz sonuçlarda kapasitabin 10 ng/ml konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı %104.56, sertralin 50 ng/mL konsantrasyonda uygulandığında hücre canlılığı %23.301 ve kombinasyonları uygulandığında ise hücre canlılığı %23.043 oranında saptanmıştır.

İçsel yolakla apoptozun uyarılmasını sağlayacak olan ajanlar, mitokondri dış membranında bulunan proapoptotik proteinlerin konformasyonunun değişmesine sebep olmaktadır. Prokaspaz-9 aracılığı ile oluşan apoptozom meydana gelmesiyle, cellat kaspaz olarak bilinen kaspaz-3 aktif hale getirilir (Gewies vd. 2003). Hücre yüzeyinin reseptörleri aracılığıyla tetiklenen dışsal yolda ise, hücre yüzeyine bağlanan bir ligand tarafından prokaspaz-8 kesilir ve kaspaz-8 aktivasyonu ile farklı kaspaz kaskadları meydana gelebilmektedir. Prokaspaz direkt kaspaz-3'ü aktive etmek dışında bazı proteinler aracılığı ile dolaylı yoldan mitokondri aracılı apoptozu tetiklemektedir (Fan vd. 2005; Wong vd. 2011).

Kaspaz-3, apoptoz mekanizmasının hem içsel hem de dışsal yolağında çok etkili olması nedeniyle, varlığının tespit edilmesi oldukça önemlidir. Kaspaz-8 varlığının incelenmesi sonucu elde ettiğimiz veriler ise sitotoksik etkinin apoptozun dışsal yolağı aracılığı ile olup olmadığını vurgulamaktadır. Sertralin ve kapasitabin etken maddelerinin tek başına ve kombinasyonlarının meme kanserinde uygulanması sonucu elde ettiğimiz veriler incelendiğinde; kaspaz-3,-8 ve-9 miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Ayrıca apoptoz için belirteç olan DNA fragmentasyonu miktarı incelenmiş ancak ne MDAMB-231 ne de MCF7 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanamamıştır. Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde; sitotoksik testleri ile elde etmiş olduğumuz hücre ölümlerinin apoptoz aracılığı olmadığını düşünmekteyiz.

Diğer ölüm mekanizmalarından biri olan otofaji, hücre içi proteinler, makromoleküller ve organeller gibi yapıların parçalanmasını ve geri dönüştürülmesini sağlamaktadır (Yang vd. 2011; Carew vd. 2012). Otofajinin kontrolünde görev alan rapamycin hedefi (TOR), memelilerde mTOR (mammalian target of rapamycin) olarak adlandırılmaktadır (Yang ve Klionsky 2009; Rabinowitz ve White 2010; Arslan vd. 2011).

MDAMB-231 ve MCF7 hücrelerinde mTOR miktarının belirlenmesi için hücre ekstraktı ve süpernatantı ayrı ayrı incelenmiştir. MDAMB-231 hücrelerinde 12 saatlik inkübasyon süresi sonrasında, hücre ekstraktındaki mTOR miktarı kontrole oranla kapasitabin'in 100 ng/ml konsantrasyonunda 0.717, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.757 ve kombinasyonlarında ise 0.525 kat baskılanmıştır. Hücre süpernatantındaki mTOR miktarı ise kontrole oranla kapasitabin'in 100 ng/mL konsantrasyonunda 0.533, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.664 ve kombinasyonlarında ise 0.59 kat baskılanmıştır. mTOR miktarı ilaçların tek kullanıldığı durumlarda hücre ekstraktında daha fazla baskılanmaktayken, kombinasyonlarda mTOR proteini ise süpernatantında daha fazla baskılanmaktadır. Bu durum dikkate alındığında; ilaçların tek başına kullanımının daha uzun inkübasyon sürelerinde etki edebileceği ve kombinasyonların kısa sürede etki göstermesinin sebebinin mTOR proteininin hücre süpernatantında hızlı bir şekilde baskılanması olabileceği düşünülmektedir.

MCF7 hücrelerinde 6 saatlik inkübasyon süresi sonrasında hücre ekstraktındaki mTOR miktarı kontrole oranla, kapasitabin'in 10 ng/mL konsantrasyonunda 0.045, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.11 ve kombinasyonlarında ise 0.0612 kat baskılanmıştır. Hücre süpernatantındaki mTOR miktarı ise; kapasitabin'in 10 ng/mL konsantrasyonunda 0.8, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.725 ve kombinasyonlarında ise 0.775 kat baskılanmıştır. mTOR miktarı hücre ekstraktında kapasitabinin tek kullanıldığı durumda kombinasyona kıyasla daha az baskılanmaktayken, sertralin ise kombinasyona kıyasla daha fazla baskılanmaktadır. mTOR miktarı hücre süpernatantında, hücre ekstraktına kıyasla daha fazla baskılanmaktadır. Her iki meme kanseri hücresinde de baskılanmış olan mtor miktarı hücrelerde belirlenmiş olan sitotoksik etkinin otofaji ile olabileceğini düşündürmektedir.

İleride yapılacak olan kapsamlı çalışmalar ile sertralin ve sertralin/kapasitabin kombinasyonunun hücrelerde sergilediği sitotoksik etki mekanizması net bir biçimde aydınlatılmaya çalışılacaktır.

6. SONUÇLAR

Tüm bu verilerle birlikte değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilmiştir:

1. Kapasitabin MCF7 hücrelerinde 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda, 125 ve 62.5 ng/mL dozlar haricinde ve MCF7 hücrelerinin diğer inkübasyon süreleri sonunda ve hiçbir dozda sitotoksik etki göstermemektedir.
2. Kapasitabin MDAMB-231 hücrelerinde, hiçbir doz ve inkübasyon süresi sonunda sitotoksik etki göstermemektedir.
3. Kapasitabin'ın her iki meme kanser hücresinde sergilediği sitotoksik etkiler kıyaslandığında, MCF7 hücrelerinde 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 125 ve 62.5 ng/ml dozlarda sitotoksik etki gösterirken MDAMB-231 hücrelerinde sitotoksik etki göstermemektedir. Bu sonuçlar kapasitabin'in, daha agresif ve östrojen negatif meme kanseri hücre hattı olan MDAMB-231'de etkili bir ajan olmadığını göstermektedir.
4. Kanser hücre hatlarında uygulanan dozlarda sitotoksik etki göstermeyen kapasitabin, MCF10A hücrelerinde çeşitli dozlarda sitotoksik ve antiproliferatif etkiler göstermektedir. Bu sonuçlar uygulamış olduğumuz doz aralığında kapasitabin'in seçici sitotoksik etki yaratmadığını işaret etmektedir.
5. Sertralin, MCF7 hücrelerinde 6, 12 ve 48 saatlik inkübasyonlarda uygulanan hiçbir dozda istatistiksel olarak anlamlı olan sitotoksik ve antiproliferatif etki göstermemektedir.
6. Sertralin, MCF7 hücrelerinde 12 saatlik inkübasyon süresinde hücre canlılığında artışa sebep olmaktadır.
7. Sertralin, MCF7 hücrelerinde 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 62.5 ng/ml'de sitotoksik, 500, 62.5, 15.62, 7.81 ve 1.95 ng/mL dozlarda ise antiproliferatif etki göstermektedir.
8. Sertralin MDAMB-231 hücrelerinde, tüm dozlarda ve inkübasyon sürelerinde antiproliferatif etki göstermektedir.
9. Sertralin'in her iki meme kanser hücresinde sergilediği sitotoksik etkiler kıyaslandığında; Sertralin'in MDAMB-231 hücrelerinde MCF7 hücrelerine kıyasla daha fazla sitotoksik ve antiproliferatif etki göstermesinin sebebi, sertralin'in hedef aldığı SERT reseptörünün MDAMB-231 hücrelerinde daha fazla ifade edilmesi olabileceği düşünülmektedir.
10. MCF10A hücrelerindeki sertralin muamelesi sonucu; 6 saatlik inkübasyonda hiçbir dozda sitotoksik etki görülmezken 31.25 ng/mL'de antiproliferatif etki göstermektedir.
11. Sertralin MCF10A hücrelerinde, 12 saatlik inkübasyon süresi sonunda hiçbir dozda sitotoksik ve antiproliferatif etki göstermezken, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hiçbir dozda sitotoksik değil fakat tüm dozlarda antiproliferatif etki göstermektedir.
12. Sertralin MCF10A hücrelerinde, 48 saatlik inkübasyon süresi sonrasında 31.25 ng/mL ve daha düşük dozlarda sitotoksik, tüm dozlarda ise antiproliferatif etki göstermektedir.
13. Her iki ajanın meme epitel hücreleri üzerindeki etkileri incelendiğinde, sertralin'in kapasitabin'e göre daha az sitotoksik etkiye sebep olduğu görülmektedir.

14. Etken maddelerin tek kullanıldığı sonuçlara kıyasla sertralin/kapasitabin kombinasyonunun kanser hücrelerinde hücre canlılığını daha çok azalttığı gösterilmektedir.
15. MDAMB-231 hücrelerinde Sertralin/kapasitabin kombinasyonunda (K2S3) ise hücre canlılığı %35.80' kadar azaltmıştır.
16. MCF7 hücrelerinde Sertralin/kapasitabin kombinasyonu (K5S3) ise hücre canlılığını %23.04 oranına düşürmektedir.
17. Kapasitabin ve sertralin kombinasyonunun her iki meme kanser hücresinde sergilediği sitotoksik etkiler kıyaslandığında, sertralin/kapasitabin kombinasyonu MCF7 hücrelerinde daha sitotoksik etki göstermektedir.
18. Sertralin ve kapasitabin etken maddelerinin tek başına ve kombinasyonlarının meme kanserinde uygulanması sonucu elde ettiğimiz veriler incelendiğinde; kaspaz-3,-8 ve-9 miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemektedir.
19. DNA fragmentasyonu miktarı incelendiğinde hem MDAMB-231 hem de MCF7 hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemektedir.
20. Kaspaz-3,-8,-9 ve DNA fragmentasyon miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı değişikliğin elde edilememesi hücrelerin ölüm mekanizmasının apoptoz olmadığını düşündürmektedir.
21. Uyguladığımız dozlarda MCF7 ve MDAMB-231 hücrelerinde kaspazlarda bir değişiklik görülmemekte, mtor seviyesi ise hem hücre ekstraktında hem de süpernatantında baskılanmaktadır.
22. mTOR miktarı hücre süpernatantında, hücre ekstraktına kıyasla daha fazla baskılanmaktadır.
23. MDAMB-231 hücrelerinde hücre ekstraktındaki mTOR miktarı; kapasitabin'in 100 ng/mL konsantrasyonunda 0.717, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.757 ve kombinasyonlarında ise 0.525 kat baskılanmıştır.
24. MDAMB-231 hücrelerinde hücre süpernetantındaki mTOR miktarı; kapasitabin'in 100 ng/mL konsantrasyonunda 0.533, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.664 ve kombinasyonlarında ise 0.59 kat baskılanmıştır.
25. MCF7 hücrelerinde hücre ekstraktındaki mTOR miktarı; kapasitabin'in 10 ng/mL konsantrasyonunda 0.045, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.11 ve kombinasyonlarında ise 0.0612 kat baskılanmıştır.
26. MCF7 hücrelerinde hücre süpernetantındaki mTOR miktarı; kapasitabin'in 10 ng/ml konsantrasyonunda 0.8, sertralin'in 50 ng/mL konsantrasyonunda 0.725 ve kombinasyonlarında ise 0.775 kat baskılanmıştır.
27. Kanser hücrelerinde meydana gelen mTOR seviyesindeki baskılanma, ölüm mekanizmasının otofaji olabileceğini düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Alexandre, J., C. Kahatt, F. Bertheault-Cvitkovic, S. Faivre, S. Shibata, W. Hilgers, F. Goldwasser, F. Lokiec, E. Raymond, G. Weems, A. Shah, J. R. MacDonald, and E. Cvitkovic. 2007. '*A phase I and pharmacokinetic study of irofulven and capecitabine administered every 2 weeks in patients with advanced solid tumors*', *Investigational New Drugs*, 25: 453-62.
- Alvano, S. A., and L. M Zieher. 2020. '*An updated classification of antidepressants: A proposal to simplify treatment.*', *Personalized Medicine in Psychiatry*, 19.
- Anding, A. L. and E. H. Baehrecke. 2017. '*Cleaning House: Selective Autophagy of Organelles.*' *Developmental Cell* 41(1): 10-22.
- Aprile, G., M. Mazzer, S. Moroso, and F. Puglisi. 2009. '*Pharmacology and therapeutic efficacy of capecitabine: focus on breast and colorectal cancer*', *Anti-Cancer Drugs*, 20: 217-29.
- Arslan, D. Ö., G. Korkmaz and D. gözüaçık. 2011. '*Otofaji: Bir hücrel stres yanıtı ve ölüm mekanizması.*' *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi* 4: 184-194.
- Arslantafi. 2011. '*Yalnızlık, depresyon, sosyal destek ve etkı eden faktörler*', *Turkish Journal of Geriatrics*, 14: 135-44.
- Artigas, F. 2013. '*Serotonin receptors involved in antidepressant effects*', *Pharmacology & Therapeutics*, 137: 119-31.
- Baskın, and ÇALIBAŞI. 2011a. '*Kanser hastalarında farmakogenetik uygulamaları ve farmakoekonomi*', *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*.
- Baskın, Y, and G ÇALIBAŞI. 2011b. '*Kanser hastalarında farmakogenetik uygulamaları ve farmakoekonomi*', *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*.
- Baykara, O. 2016. '*Kanser tedavisinde güncel yaklaşımlar*', *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5: 154-65.
- Begam, A. J., S. Jubie, and M. J. Nanjan. 2017. '*Estrogen receptor agonists/antagonists in breast cancer therapy: A critical review*', *Bioorganic Chemistry*, 71: 257-74.
- Blagosklonny, M. V. 2005. '*Molecular theory of cancer*', *Cancer Biology & Therapy*, 4: 621-27.
- Bray, F., J. Ferlay, I. Soerjomataram, R. L. Siegel, L. A. Torre, and A. Jemal. 2018. '*Global cancer statistics 2018: globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries*', *CA Cancer J Clin*, 68: 394-424.
- Çapar. 2010. '*Kemoterapi gören kanserli hastalarda ağrı ile anksiyete ve depresyon arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi*'.
- Caraci, F., R. Crupi, F. Drago, and E. Spina. 2011. '*Metabolic Drug Interactions Between Antidepressants and Anticancer Drugs: Focus on Selective Serotonin Reuptake Inhibitors and Hypericum Extract*', *Current Drug Metabolism*, 12: 570-77.
- Carew, J. S., K. R. Kelly and S. T. Nawrocki. 2012. '*Autophagy as a target for cancer therapy: new developments.*' *Cancer management and research* 4(357).

- Carlos, A. R. 2019. 'Genomic Instability: DNA Repair and Cancer', In *Molecular and Cell Biology of Cancer*: 75-96.
- Çelik. 2016. 'Major depresif bozukluk tanımı, etyolojisi ve epidemiyolojisi: bir gözden geçirme.', *Çağdaş tıp dergisi*, 6: 51-66.
- Chen, S. N., S. K. Rehman, W. Zhang, A. D. Wen, L. B. Yao and J. Zhang 2010. "Autophagy is a therapeutic target in anticancer drug resistance." *Biochimica Et Biophysica Acta-Reviews on Cancer* 1806(2): 220-229.
- Chen, S., Wu, Q., Li, X., Li, D., Fan, M., Ren, Z., ... & Guo, L. 2020. *The role of hepatic cytochrome P450s in the cytotoxicity of sertraline. Archives of toxicology*, 94, 2401-2411.
- Chen, S., Xuan, J., Wan, L., Lin, H., Couch, L., Mei, N., ... & Guo, L. 2014. *Sertraline, an antidepressant, induces apoptosis in hepatic cells through the mitogen-activated protein kinase pathway. Toxicological sciences*, 137(2), 404-415.
- Chen, W. T., Hsu, F. T., Liu, Y. C., Chen, C. H., Hsu, L. C., & Lin, S. S. 2019. *Fluoxetine induces apoptosis through extrinsic/intrinsic pathways and inhibits ERK/NF-κB-modulated anti-apoptotic and invasive potential in hepatocellular carcinoma cells in vitro. International journal of molecular sciences*, 20(3), 757.
- Chinnapaka, S., Bakthavachalam, V., & Munirathinam, G. 2020. *Repurposing antidepressant sertraline as a pharmacological drug to target prostate cancer stem cells: dual activation of apoptosis and autophagy signaling by deregulating redox balance. American Journal of Cancer Research*, 10(7), 2043.
- Dooley, M., and K. L. Goa. 1999. 'Capecitabine', *Drugs*, 58: 69-76.
- Eser, B. 2019. 'Majör depresif bozukluk tanısı alan hastalarda depresif belirti şiddeti, üstbilişler ve obsesif inanışlar arasındaki ilişkiler', *Çağ Üniversitesi*
- Fan, T. J., L. H. Han, R. S. Cong, and J. Liang. 2005. 'Caspase family proteases and apoptosis', *Acta Biochimica Et Biophysica Sinica*, 37: 719-27.
- Ferlay, J., M. Colombet, I. Soerjomataram, D. M. Parkin, M. Pineros, A. Znaor, and F. Bray. 2021. 'Cancer statistics for the year 2020: An overview', *Int J Cancer*.
- Foster, I. 2008. 'Cancer: A cell cycle defect', *Radiography*, 14: 144-49.
- Foulkes, W. D., I. E. Smith and J. S. Reis. 2010. "Triple-Negative Breast Cancer." *New England Journal of Medicine* 363(20): 1938-1948.
- Gewies, A. . 2003. 'Introduction to apoptosis', *Aporeview*, 3: 1–26.
- Gil-Ad, I., Zolokov, A., Lomnitski, L., Taler, M., Bar, M., Luria, D., ... & Weizman, A. 2008. *Evaluation of the potential anti-cancer activity of the antidepressant sertraline in human colon cancer cell lines and in colorectal cancer-xenografted mice. International journal of oncology*, 33(2), 277-286.
- Gwynne, W. D., Hallett, R. M., Girgis-Gabardo, A., Bojovic, B., Dvorkin-Gheva, A., Aarts, C., ... & Hassell, J. A. 2017. *Serotonergic system antagonists target breast tumor initiating cells and synergize with chemotherapy to shrink human breast tumor xenografts. Oncotarget*, 8(19), 32101.

- Hanahan, D., and R. A. Weinberg 2011. '*Hallmarks of Cancer: The Next Generation*', *Cell*, 144: 646-74.
- Hanahan, D., and R. A. Weinberg. 2000. '*The hallmarks of cancer*', *Cell*, 100: 57-70.
- Harrington, K. J. 2016. '*The biology of cancer*', *Medicine*, 44: 1-5.
- Hiemke, C., and S. Hartter. 2000. '*Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors*', *Pharmacology & Therapeutics*, 85: 11-28.
- Jiang, X., Lu, W., Shen, X., Wang, Q., Lv, J., Liu, M., ... & Pang, X. 2018. '*Repurposing sertraline sensitizes non-small cell lung cancer cells to erlotinib by inducing autophagy*'. *JCI insight*, 3(11).
- Karamustafalıoğlu, O, and H. Yumrukçal. 2011. '*Depresyon ve anksiyete bozuklukları*', *Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni*, 45: 65-74.
- Khvatova, G. I., and A. V. Semeikin. 2011. '*Molecular-Biological Problems of Drug Design and Mechanism of Drug Action Comparative Cytotoxicity of Capecitabine and Xeloda on Cultured Mcf-7, Ht-12, and Rat Thymocytes*', *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 44: 651-53.
- Kim, K. H. and M. S. Lee. 2014. '*Autophagy-a key player in cellular and body metabolism*.' *Nature Reviews Endocrinology* 10(6): 322-337.
- Klionsky, D. J. 2008. '*Autophagy revisited: a conversation with Christian de Duve*.' *Autophagy* 4(6): 740-743.
- Levenson, A. S. and V. C. Jordan. 1997. '*MCF-7: the first hormoneresponsive breast cancer cell line. .*' *Cancer Res.* 57: 3071–3078.
- Loeb, L. A., K. R. Loeb, and J. P. Anderson. 2003. '*Multiple mutations and cancer*', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100: 776-81.
- Lukong, K. E. 2017. '*Understanding breast cancer - The long and winding road*', *Bba Clinical*, 7: 64-77.
- Mandrioli, R., L. Micolini, M. A. Saracino, and M. A. Raggi. 2012. '*Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs): Therapeutic Drug Monitoring and Pharmacological Interactions*', *Current Medicinal Chemistry*, 19: 1846-63.
- Matuo, R., F. G. Sousa, A. E. Escargueil, I. Grivicich, D. Garcia-Santos, J. A. B. Chies, J. Saffi, A. K. Larsen, and J. A. P. Henriques. 2009. '*5-Fluorouracil and its active metabolite FdUMP cause DNA damage in human SW620 colon adenocarcinoma cell line*', *Journal of Applied Toxicology*, 29: 308-16.
- Mehrmohamadi, M., S. H. Jeong, and J. W. Locasale. 2017. '*Molecular features that predict the response to antimetabolite chemotherapies*', *Cancer & Metabolism*, 5.
- Mete, and Hayriye Elbi. 2008. '*Kronik hastalık ve depresyon*', *Klinik Psikiyatri* 11: 3-18.
- Mladkova, J., M. Sanda, E. Matouskova and I. Selicharova. 2010. '*Phenotyping breast cancer cell lines EM-G3, HCC1937, MCF7 and MDA-MB-231 using 2-D electrophoresis and affinity chromatography for glutathione-binding proteins*.' *Bmc Cancer* 10.

- Muguruma, M., S. Teraoka, K. Miyahara, A. Ueda, M. Asaoka, M. Okazaki, T. Kawate, M. Kuroda, Y. Miyagi and T. Ishikawa. 2020. "Differences in drug sensitivity between two-dimensional and three-dimensional culture systems in triple-negative breast cancer cell lines." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 533(3): 268-274.
- Ölgen, S., I. Biçak, and D. Nebioğlu. 2002. 'Angiogenesis ve kanser tedavisinde yeni yaklaşımlar', *J. Fac. Pharm*, 31: 193-214.
- Övey, İ. S., & Güler, Y. 2020. *Apoptotic efficiency of capecitabine and 5-fluorouracil on human cancer cells through TRPV1 channels*.
- Pasquier, J., P. Magal, C. Boulange-Lecomte, G. Webb, and F. Le Foll. 2011. 'Consequences of cell-to-cell P-glycoprotein transfer on acquired multidrug resistance in breast cancer: a cell population dynamics model', *Biol Direct*, 6: 5.
- Pinquart, M., and P. R. Duberstein. 2010. 'Depression and cancer mortality: a meta-analysis', *Psychological Medicine*, 40: 1797-810.
- Pitts, T. M., Simmons, D. M., Bagby, S. M., Hartman, S. J., Yacob, B. W., Gittleman, B., ... & Diamond, J. R. 2020. *Wee1 inhibition enhances the anti-tumor effects of capecitabine in preclinical models of triple-negative breast cancer*. *Cancers*, 12(3), 719.
- Rabinowitz, J. D. and E. White. 2010. "Autophagy and Metabolism." *Science* 330(6009): 1344-1348.
- Rivenbark, A. G. 2017. 'An Overview of Cancer Genes', *The Molecular Basis of Human Cancer*: 121-42.
- Rodin, G., N. Lloyd, M. Katz, E. Green, J. A. Mackay, R. K. S. Wong, and Care Ontario Program. 2007. 'The treatment of depression in cancer patients: a systematic review', *Supportive Care in Cancer*, 15: 123-36.
- Saif, M. W., N. A. Katirtzoglou, and K. N. Syrigos. 2008. 'Capecitabine: an overview of the side effects and their management', *Anti-Cancer Drugs*, 19: 447-64.
- Sankari, S. L., K. M. K. Masthan, N. A. Babu, T. Bhattacharjee, and M. Elumalai. 2012. 'Apoptosis in Cancer - An Update', *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13: 4873-78.
- Sarrouilhe, D., and M. Mesnil. 2019. 'Serotonin and human cancer: A critical view', *Biochimie*, 161: 46-50.
- Seymen, P. N., and E. Gumuslu. 2019. 'Determination of ALK Gene Rearrangement with FISH Method in Non Small Cell Lung Carcinoma', *Journal of Academic Research in Medicine-Jarem*, 9: 66-70.
- Siegel, R. L., K. D. Miller, and A. Jemal. 2019. 'Cancer statistics, 2019', *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69: 7-34.
- Smith, H. R. 2015. 'Depression in cancer patients: Pathogenesis, implications and treatment', *Oncology Letters*, 9: 1509-14.
- Stewart, R. L., S. C. Koo, and L. V. Furtado. 2018. 'Principles of Molecular Biology and Oncogenesis', *In Precision Molecular Pathology of Neoplastic Pediatric Diseases*: 3-8.

- Tarhan, N. 1992. 'Sertralin: Yeni Bir Antidepresan', *Klinik Psiköfarmakoloji Bülteni*, 2: 22-36.
- Terranova-Barberio, M., Roca, M. S., Zotti, A. I., Leone, A., Bruzzese, F., Vitagliano, C., ... & Di Gennaro, E. 2016. *Valproic acid potentiates the anticancer activity of capecitabine in vitro and in vivo in breast cancer models via induction of thymidine phosphorylase expression*. *Oncotarget*, 7(7), 7715.
- Thakur, M., Sharma, R., Mishra, A. K., & Singh, K. R. 2021. *Prevalence and Psychobiological Correlates of Depression Among Breast Cancer Patients*. *Indian Journal of Surgical Oncology*, 1-7.
- Then, C. K., Liu, K. H., Liao, M. H., Chung, K. H., Wang, J. Y., & Shen, S. C. 2017. *Antidepressants, sertraline and paroxetine, increase calcium influx and induce mitochondrial damage-mediated apoptosis of astrocytes*. *Oncotarget*, 8(70), 115490.
- Tzadok, S., Beery, E., Israeli, M., Uziel, O., Lahav, M., Fenig, E., ... & Nordenberg, J. 2010. *In vitro novel combinations of psychotropics and anti-cancer modalities in U87 human glioblastoma cells*. *International journal of oncology*, 37(4), 1043-1051.
- Waks, A. G., and E. P. Winer. 2019. 'Breast Cancer Treatment A Review', *Jama-Journal of the American Medical Association*, 321: 288-300.
- Walko, C. M., and C. Lindley. 2005. 'Capecitabine: A review', *Clinical Therapeutics*, 27: 23-44.
- Westphal, D., G. Dewson, P. E. Czabotar, and R. M. Kluck. 2011. 'Molecular biology of Bax and Bak activation and action', *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research*, 1813: 521-31.
- Whitehall, J. C., and L. C. Greaves. 2020. 'Aberrant mitochondrial function in ageing and cancer', *Biogerontology*, 21: 445-59.
- Wong, R. S. 2011. 'Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment', *J Exp Clin Cancer Res*, 30: 87.
- Yang, Z. F. and D. J. Klionsky. 2009. "An Overview of the Molecular Mechanism of Autophagy." *Autophagy in Infection and Immunity* 335: 1-32.
- Yang, Z. N. J., C. E. Chee, S. B. Huang and F. A. Sinicrope. 2011. "The Role of Autophagy in Cancer: Therapeutic Implications." *Molecular Cancer Therapeutics* 10(9): 1533-1541.
- Yanık, M, N. 2011. 'Milnasipran Ve Sertralinin Ağrı ve İnflamasyon Üzerine Etkisinin Farklı İki Modelle Araştırılması', Karadeniz Teknik Üniversitesi.
- Yap, K. Y. L., W. L. Tay, W. K. Chui, and A. Chan. 2011. 'Clinically relevant drug interactions between anticancer drugs and psychotropic agents', *European Journal of Cancer Care*, 20: 6-32.
- Yohannes, A. M., T. G. Willgoss, R. C. Baldwin, and M. J. Connolly. 2010. 'Depression and anxiety in chronic heart failure and chronic obstructive pulmonary disease: prevalence, relevance, clinical implications and management principles', *International Journal of Geriatric Psychiatry*, 25: 1209-21.

Zhou, T., Duan, J., Wang, Y., Chen, X., Zhou, G., Wang, R., ... & Xu, F. 2012. *Fluoxetine synergys with anticancer drugs to overcome multidrug resistance in breast cancer cells. Tumor Biology*, 33(5), 1299-1306.



ÖZGEÇMİŞ

Serap ÖZKAYA

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2018- 2021	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Antalya
Lisans 2013-2017	Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Antalya
Lisans 2017-2021	Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü, Antalya

ESERLER

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

- Özkaya S, Uludağ R, Aydemir E 2020. Kitosan katkılı yeşil çam kozalağı ekstraktlarının antikanser etkilerinin araştırılması. *International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry, BioTechBioChem 2020* (Sözlü bildiri).
- Aydemir M.C, Ozkaya S, Kılıc M.A 2017. A Novel Rat Prolactin Receptor ShOrtalama Form 3'-UTR: Two 3' End Variants with a 6 Nucleotide Difference. *Conference: 5th International Congress of the Molecular Biology Association of Turkey, Istanbul, Turkey* (Poster sunumu).