

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**AMİODARON VE TRASTUZUMAB KOMBİNASYONUNUN MEME
KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE
ANTİANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Beyzanur ŞİMŞEK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2023

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**AMİODARON VE TRASTUZUMAB KOMBİNASYONUNUN MEME
KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE
ANTİANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Beyzanur ŞİMŞEK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZİRAN 2023

ANTALYA

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

**AMİODARON VE TRASTUZUMAB KOMBİNASYONUNUN MEME
KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE
ANTİANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Beyzanur ŞİMŞEK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2022-5991 proje numarası ile desteklenmiştir.**

HAZİRAN 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMİODARON VE TRASTUZUMAB KOMBİNASYONUNUN MEME
KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE
ANTİANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Beyzanur ŞİMŞEK
BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 04/07/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Esra AYDEMİR (Danışman)

Prof. Dr. Aysun ÖZKAN

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

ÖZET

AMİODARON VE TRASTUZUMAB KOMBİNASYONUNUN MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ SİTOTOKSİK VE ANTİANJİYOGENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Beyzanur ŞİMŞEK

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Esra AYDEMİR

Haziran 2023; 90 sayfa

Neoplastik ilerlemede iyon kanalları, büyümeyi inhibe edecek sinyallere karşı duyarsızlık, invazyon ve metastaz, anjiyogenez, apoptozdan kaçma gibi kanserin ayırt edici özelliklerine de katkı sağlamaktadır. İyon kanallarının fonksiyonları ve özellikleri patolojik koşullarda değişebilmektedir. Bu değişen fonksiyonlardan bazıları kanser hücreleri için hayatta kalma ve metastaz gibi kritik olaylarda rol oynamaktadır. İyon kanalları, bazı önemli hayatta kalma sinyal yollarını ve membran potansiyelini düzenleyerek kanser hücresi proliferasyonunu kontrol etmektedir. Fakat kanser tedavisi için iyon kanallarını hedefleyecek özel olarak tasarlanmış ilaç henüz mevcut değildir. Çeşitli hastalıkların patofizyolojisindeki rolü bilinen iyon kanallarını hedef alan, bu hastalıkları tedavi edecek ilaç formları zamanla geliştirilmiştir. Bu tedavilerde kullanılanlar arasında birçok antiepileptik ve migren ilaçları, lokal anestezikler, antipsikotikler, antiaritmikler, antihipertansifler ve oral hipoglisemik ajanlar sayılabilir. Klinik olarak onaylanmış bu ilaçlar, zaman, bilinen güvenlik profili, insanlar üzerinde anlaşılmış farmakokinetik mekanizma ve ekonomik yönleriyle kolaylık sağlayacağı için kanser tedavisi için yeniden kullanılabilir.

Bu tez çalışmasında trastuzumab, amiodaronun tek başına ve kombinasyonlarının MCF-7, MDA-MB-231, MCF-10A ve HUVEC hücre hatlarında sitotoksik ve antianjiyogenik özellikleri araştırılmıştır. Amiodaron, MCF-7 24, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir. 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir. 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir. Trastuzumab 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5 ve 1 µg /ml dozlarında hiçbir hücre hattında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir. Fakat 72 saatlik inkübasyon süresinde 150-100 µg /ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur. MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 1, 2.5 ve 5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemekte olup hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.

Elde edilen veriler sonucunda MDA-MB-231 ve MCF7 hücrelerinde kaspaz-3 miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemektedir. Sonuçlarda ilaçların tek başına ve kombinasyonunun apoptotik etkisi olmadığı görülürken 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında 24 saatlik inkübasyon

süresi sonunda VEGF miktarında MCF-7, MDA-MB-231, MCF10A ve HUVEC hücre hatlarında istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Potasyum İyon Kanalı, Amiodaron, Trastuzumab, Meme Kanseri, Kombinasyon

JÜRİ: Doç. Dr. Esra AYDEMİR (Danışman)

Prof. Dr. Aysun ÖZKAN

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ



ABSTRACT

INVESTIGATION OF CYTOTOXIC AND ANTIANGIOGENIC EFFECTS OF AMIODARONE AND TRASTUZUMAB COMBINATION ON BREAST CANCER CELLS

Beyzanur ŞİMŞEK

MSc Thesis in Biology

Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Esra AYDEMİR

June 2023; 90 pages

In neoplastic progression, ion channels also contribute to the distinctive features of cancer, such as insensitivity to growth-inhibiting signals, invasion and metastasis, angiogenesis, and escape from apoptosis. Functions and properties of ion channels can change under pathological conditions. Some of these altered functions play a role in critical events for cancer cells such as survival and metastasis. Ion channels control cancer cell proliferation by regulating some important survival signaling pathways and membrane potential. However, there is no drug specifically designed to target ion channels for cancer treatment yet. Over time, drug forms have been developed to target ion channels, which are known to play a role in the pathophysiology of various diseases, and to treat these diseases. Many antiepileptic and migraine drugs, local anesthetics, antipsychotics, antiarrhythmics, antihypertensives and oral hypoglycemic agents can be counted among those used in these treatments. These clinically approved drugs can be reused for cancer treatment because of their convenience in time, known safety profile, agreed-upon pharmacokinetic mechanism and economic aspects.

In this thesis study, the cytotoxic and antiangiogenic properties of trastuzumab, amiodarone alone and their combinations were investigated in MCF-7, MDA-MB-231, MCF-10A and HUVEC cell lines. Amiodarone, MCF-7 showed a statistically significant cytotoxic effect in MCF-7 cells at doses of 150, 100, 80, 60, 40, 20 µg/ml at the end of the incubation period of 48 hours. 72 hour incubation period, it showed a statistically significant cytotoxic effect on MCF-7 cells at doses of 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg/ml. 24, 48 and 72 hours incubation period, it showed a statistically significant cytotoxic effect on MDA-MB-231 cells at doses of 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg/ml. Trastuzumab did not show statistically significant cytotoxic effects in any cell line at 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5 and 1 µg/ml doses. However, at the end of the 72 hour incubation period, it caused an antiproliferative effect in the dose range of 150-100 µg / ml. In combinations of amiodarone 1, 2.5 and 5 µg / ml in MCF-7 cells, no statistically significant cytotoxic effect is observed at any dose and causes a statistical decrease in cell viability.

As a result of the data obtained, there is no statistically significant change in the amount of caspase-3 in MDA-MB-231 and MCF7 cells. In the results, it was observed that there was no apoptotic effect of the drugs alone or in combination, while a statistically significant decrease was observed in the amount of VEGF in MCF-7, MDA-MB-231, MCF10A and HUVEC cell lines at the end of the 24-hour incubation period with 2.5 µg / ml amiodarone, 5 µg / ml trastuzumab and their combinations.

KEYWORDS: Potassium Ion Channel, Amiodarone, Trastuzumab, Breast Cancer, Combination.

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Esra AYDEMİR

Prof. Dr. Aysun ÖZKAN

Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ



ÖNSÖZ

İyon kanalları, normal dokulara kıyasla kanserlerde anormal bir ifadeye sahip oldukları için kanserin ayırt edici özelliklerine katkıda bulunmaktadır. Radyoterapi ve kemoterapötik ajanlar, sadece hızlı bölünen kanser hücrelerini değil, normal hücreleride hedef alarak tedavide yer almaktadır. Son yıllarda yeni nesil kanser tedavisi yani büyümeyi engelleyen, hücre ölümünü artıran ve kanserin yayılmasını sınırlayan hedefe yönelik kanser tedavileri ön plana çıkmaktadır. Günümüzde kanser araştırmaları, tedavi için yeni ilaçlar geliştirmeye çalışmaktadır ve olası yeni hedeflerin belirlenmesine odaklanmaktadır. Bu hedefler arasında yer alan iyon kanalları için ise iyon kanalı blokerleri kullanılmaktadır. İyon kanal blokerleri iyon kanallarının hücre proliferasyonu ve kanser büyümesi üzerindeki etkisini belirlemek için önemli bir araç ve tedavi yöntemi olmaktadır.

Bu tez kapsamında meme kanserinde yaygın kullanılan trastuzumab ile antiaritmik olup aynı zamanda iyon kanal blokeri olan amiodaron kombinasyonunun MDA-MB-231 ve MCF-7 insan meme kanseri hücreleri, MCF-10A ve HUVEC epitel ve endotel hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri, kaspaz-3 aktivitesi ve VEGF miktarları değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçların yeni kanser tedavileri için yapılan çalışmalara ve araştırmalara katkıda bulunacağını umut etmekteyiz.

Hedeflerime ve hayallerime ulaşmak için bana ilham veren hem benim için bir örnek hem de hayatta bir yol gösterici olan beni çocuklarından ayırmayan ve hayatımda kıymetli izler bırakan saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Esra AYDEMİR'e

Akademik alanda ve hayatımın her anında ilgisi, desteği ve bilgi birikimiyle her zaman yanımda olan, bu yolda bana ışık tutan sayın hocam Dr. Ayşegül Cansu KİLİT'e

Benim için sadece bir laboratuvar çalışma arkadaşı olmayıp bu süreçlerde gerek bilgi birikimiyle gerekse yardımlarıyla yanımda olan bana gösterdiği bütün destekler için kıymetli dostum Serap ÖZKAYA GÜL'e

Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Kanser Moleküler Biyolojisi laboratuvarı ekip arkadaşlarıma ve Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nün öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Bu süreçte her zaman yanımda olan ve beni motive eden canım arkadaşlarıma,

Hedeflerime giden yolda her daim yanımda olan, ne zaman pes edecek olsam elimden tutup ilerlememi sağlayan ve bu hayattaki zorlu koşulları tek başına sırtlanan beni bugünlere getiren, bana her daim inancı olan biricik annem Güler KILIÇ'a, hayatta hep birbirimizin destekçisi olduğumuz iyi ki hep yanımda dediğim canım kardeşim Ayşenur BALKİS'e, her zaman her konuda beni destekleyen, benimle bu hayat yolunu birlikte yürüten ve varlığıyla hayatıma anlam katan canım eşim Sefa Mert ŞİMŞEK'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca BİDEB 2210-A Genel Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında beni destekleyerek burs veren TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. İyon Kanalları	3
2.1.1 Potasyum İyon Kanalları.....	4
2.1.2 Amiodaron	6
2.2. Kanser	7
2.2.1. Apoptoz.....	9
2.2.2. Anjiyogenez.....	11
2.2.3 Meme Kanseri.....	12
3. MATERYAL VE METOD	15
3.1. Hücreler ve Kültür koşulları.....	15
3.2. Hücrelere Amiodaron ve Trastuzumab Kombinasyonunun Uygulaması.....	15
3.3. Sitotoksikite Testleri.....	15
3.3.1. WST-8 Hücre Proliferasyon Kiti.....	15
3.3.2. Tripan Mavisi.....	16
3.4. Kaspaz-3 Enzim Miktarının Araştırılması.....	17
3.5. VEGF Miktarının Araştırılması.....	17
3.6. İstatistiksel Analiz.....	17

4. BULGULAR.....	18
4.1. MCF-7 Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri.....	18
4.1.1. Amiodaronun tek başına MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	18
4.1.2. Trastuzumabın tek başına MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	21
4.1.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	24
4.1.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi.....	30
4.2. MDA-MB-231 Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri.....	31
4.2.1. Amiodaronun tek başına MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	31
4.2.2. Trastuzumabın tek başına MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi	35
4.2.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	38
4.2.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi.....	44
4.3. MCF-10A Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri.....	44
4.3.1. Amiodaronun tek başına MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	44
4.3.2. Trastuzumabın tek başına MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi	48
4.3.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	51
4.3.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi.....	57
4.4. HUVEC Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri.....	57
4.4.1. Amiodaronun tek başına HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	57
4.4.2. Trastuzumabın tek başına HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi	61

4.4.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi.....	64
4.4.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi.....	70
4.5 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi.....	71
4.6 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi.....	72
4.7 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi.....	73
4.8 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi.....	73
4.9 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi.....	74
4.10 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi.....	74
4.11 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi.....	75
4.12 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi.....	75
5. TARTIŞMA	76
6. SONUÇLAR	81
7. KAYNAKLAR	85
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Amiodaron ve Trastuzumab Kombinasyonunun Meme Kanseri Hücreleri Üzerindeki Sitotoksik ve Antianjiyogenik Etkilerinin Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

04/07/2023

Beyzanur ŞİMŞEK



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µg: Mikrogram

ml: Mililitre

rpm: Dakikadaki devir sayısı

°C: Santigrad Derece

µl: Mikrolitre

‰: Yüzde

nm: Nanometre

Kısaltmalar

AIF : Apoptoz İndükleyici Faktör

ATCC : Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu

Bad : Bcl-2 İlişkili Ölüm Proteini

BAK : Bcl-2 Homolog Antagonist Öldürücü

Bax : Bcl-2 İlişkili X Proteini

BCL-2 : B Hücre Lenfoma 2

CAD : Kaspazla Aktive Edilen Deoksiribonükleaz

CO₂ : Karbondioksit

CYP : Sitokrom P450

DISC : Ölüm İndükleyici Sinyal Kompleksi

DMSO : Dimetil Sülfoksit

EDTA : Etilendiamin Tetraasetik Asit

EGFR : Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü

ER : Östrojen Reseptörü

FBS : Fetal Bovin Serum

Gran B : Granzim B

IC50 : %50 İnhibisyon Konsantrasyonu

ICAD : Kaspazla Aktive Edilen Deoksiribonükleaz İnhibitörü

MCF-7 : Östrojen Reseptör Pozitif İnsan Meme Kanseri

MDA-MB-231 : Östrojen Reseptör Negatif İnsan Meme Kanseri

P53 : 53 Kda'lık Protein

PBS : Fosfat Tampon Tuzu

PR : Progesteron Reseptörü

TNF : Tümör Nekroz Faktörü

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

WST : Suda Çözünabilir Tetrazolyum Tuzu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kanser ilerlemesinde iyon kanallarının çoklu rolleri.....	3
Şekil 2.2. Amiodaron yapısal formülü.....	7
Şekil 2.3. Desetilamiodaron yapısal formülü.....	7
Şekil 2.4. Kanser hücrelerinin on temel özelliği.....	9
Şekil 2.5. İntrinsik ve Ekstrinsik apoptotik yolların şematik çizimi.....	11
Şekil 2.6. Pro-anjiyogenez faktörlerinin etkisi ile anti-anjiyogenez faktörlerinin etkisi arasındaki denge.....	12
Şekil 3.1. Canlı hücrelerin miktarının hesaplandığı formül.....	16
Şekil 4.1 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi.....	18
Şekil 4.2 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	19
Şekil 4.3 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi.....	19
Şekil 4.4 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	20
Şekil 4.5 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi.....	20
Şekil 4.6 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	21
Şekil 4.7 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi.....	21
Şekil 4.8 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	22
Şekil 4.9 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi.....	22
Şekil 4.10 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	23
Şekil 4.11 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi.....	23

Şekil 4.12 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	24
Şekil 4.13. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	25
Şekil 4.14. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	25
Şekil 4.15. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	26
Şekil 4.16. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	27
Şekil 4.17. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	27
Şekil 4.18. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	28
Şekil 4.19. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki sitotoksosite ve hücre canlılığına etkisi.....	29
Şekil 4.20. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	29
Şekil 4.21. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	30
Şekil 4.22. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	31
Şekil 4.23 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksosite etkisi.....	32
Şekil 4.24 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	32

Şekil 4.25 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	33
Şekil 4.26 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	33
Şekil 4.27 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	34
Şekil 4.28 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	34
Şekil 4.29 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	35
Şekil 4.30 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	35
Şekil 4.31 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	36
Şekil 4.32 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	36
Şekil 4.33 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	37
Şekil 4.34 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	37
Şekil 4.35. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	38
Şekil 4.36. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	39
Şekil 4.37. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	39
Şekil 4.38. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	40
Şekil 4.39. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	41

Şekil 4.40. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	41
Şekil 4.41. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	42
Şekil 4.42. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	43
Şekil 4.43. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	43
Şekil 4.44. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	44
Şekil 4.45 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	45
Şekil 4.46 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	45
Şekil 4.47 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	46
Şekil 4.48 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	46
Şekil 4.49 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	47
Şekil 4.50 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	47
Şekil 4.51 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	48
Şekil 4.52 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	48
Şekil 4.53 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	49
Şekil 4.54 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	49

Şekil 4.55 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksosite etkisi.....	50
Şekil 4.56 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	50
Şekil 4.57. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	51
Şekil 4.58. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	52
Şekil 4.59. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	52
Şekil 4.60. Amiodaron 2,5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	53
Şekil 4.61. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	54
Şekil 4.62. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	54
Şekil 4.63. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	55
Şekil 4.64. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	56
Şekil 4.65. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksositeye etkisi.....	56
Şekil 4.66. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi.....	57
Şekil 4.67 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksosite etkisi.....	58

Şekil 4.68 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	59
Şekil 4.69 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	59
Şekil 4.70 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	60
Şekil 4.71 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	60
Şekil 4.72 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	61
Şekil 4.73 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	61
Şekil 4.74 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	62
Şekil 4.75 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	62
Şekil 4.76 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	63
Şekil 4.77 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksisite etkisi.....	63
Şekil 4.78 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	64
Şekil 4.79. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	65
Şekil 4.80. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	65
Şekil 4.81. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	66
Şekil 4.82. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	67

Şekil 4.83. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	67
Şekil 4.84. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	68
Şekil 4.85. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	69
Şekil 4.86. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	69
Şekil 4.87. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına ve sitotoksisiteye etkisi.....	70
Şekil 4.88. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi.....	71
Şekil 4.89 MCF-7 hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi.....	72
Şekil 4.90 MDA-MB-231 hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi.....	72
Şekil 4.91 MCF-10A hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi.....	73
Şekil 4.92 HUVEC hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi.....	73
Şekil 4.93 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerindeki VEGF miktarı.....	74
Şekil 4.94 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDA-MB-231 hücrelerindeki VEGF miktarı.....	75
Şekil 4.95 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-10A hücrelerindeki VEGF miktarı.....	75

Şekil 4.96 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda HUVEC hücrelerindeki VEGF miktarı.....75



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Antiaritmik tedavi için Vaughan Williams sınıflandırma sistem.....	6
---	---



1. GİRİŞ

Kanser dünya çapında önde gelen ölüm nedenleri arasında olup önemli bir halk sağlığı sorunudur. Günümüzde tanımlanan 100'den fazla farklı kanser türü mevcuttur (Fitzgerald vd., 2022; Zugazagoitia vd., 2016; Hanahan ve Weinberg, 2000). Hanahan ve Weinberg (2011)'e göre kanser hücrelerinin on tane ayırt edici özelliği bulunmaktadır (Hanahan ve Weinberg, 2011). Tümör gelişimi sırasında kazanılan bu özelliklerin her biri yeni tanı ve tedaviler için uygun birer belirteç olarak kullanılabilir (Nair vd., 2018; Hanahan ve Weinberg, 2011).

Meme kanseri, her yedi kadından birini etkileyen ve erken bir aşamada teşhis edilirse yüksek oranda tedavi edilebilen kadınlarda en yaygın invaziv kanserdir (Gadaleta vd., 2022; Nair vd., 2018). Meme kanseri risk faktörleri arasında yaş, üreme faktörleri, kişisel veya ailesel meme hastalığı öyküsü, genetik yatkınlık ve çevresel faktörler bulunmaktadır (Shah vd., 2014).

Cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyasyon kanser tedavileri arasında yer almaktadır. Kanser tedavi yöntemleri birçok kanser türü için sınırlı klinik sonuçlara sahip olmasına rağmen bu sınırlı klinik sonuçlara neden olan faktörleri düzenlemek için yeni tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Kanser hücrelerinde proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi hücresel süreçlerde iyon kanallarının rolü ve tedaviler için özellikle K^+ ve Ca^{+2} kanal blokerlerinin işlevi 1980'lerin sonunda ortaya çıkarılmıştır (Li ve Xiong, 2011; Prevarskaya vd., 2010).

İnsan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2 (HER2)'nin aşırı ekspresyonu, meme kanseri patofizyolojisinde yer almaktadır ve meme kanseri tedavisi için klinik olarak ilgili bir biyobelirteçi temsil etmektedir. HER2'yi hedefleyen trastuzumab, HER2-pozitif meme kanseri tedavisi için onaylanan ilk biyolojik ilaçtır. Farklı anti-HER2 ajanları (ör. pertuzumab ve lapatinib) olmasına rağmen, trastuzumab bu hastalığın tedavisi için altın standart olmaya devam etmektedir (Maximiano vd., 2016).

İyon kanalları, membranda 3-5Å çapta oluşturdukları delikler aracılığıyla iyon hareketlerini gerçekleştirir. İyonların membrandaki bu hareketleri evrimsel olarak korunmuş olup yaşam için önemli işlevlere sahiptir (Cannon, 2007, Akay vd., 2010) İyon kanalları geçiş mekanizmalarına göre iki kategoriye ayrılabilir: 1) Voltaj kapılı iyon kanalları: membran potansiyel değişikliklerine bağlı olarak kanalın açılıp kapanması gerçekleşir. Bu kanallar aktive olduklarında belirli iyonları iletirler. 2)Ligand kapılı iyon kanalları: Yüksek bir seçicilik olmadan katyonları veya anyonları ileten iyon kanallarıdır. Patolojik koşullarda iyon kanallarının işlevleri veya özellikleri değişebilir (Li ve Xiong, 2011). Bu işlevlerin bazıları, kanser hücresinin hayatta kalması ve metastazı için kritik öneme sahiptir (Lang ve Stournaras 2014).

Potasyum iyon kanallar, K^+ iyonlarının hücre zarı boyunca seçici ve etkili bir şekilde iletilmesine izin veren transmembran proteinlerdir. Birden fazla fizyolojik ve patofizyolojik süreçte de yer almaktadır. Potasyum iyon kanallarının farklı üyeleri arasındaki çeşitlilik bu kanalların açık olduğu farklı yollarla ilgilidir. Bu kanallar voltaj kapılı, iki gözenekli, içe doğru doğrultucu ve kalsiyumla aktive olan potasyum kanalları üzere dört farklı üyeden oluşmaktadır (Öster vd., 2019; Pardo ve Stühmer, 2014; Emre, 2020; MacKinnon, 2003). Potasyum iyon kanalları hücre hacminin düzenlenmesi,

proliferasyonu, hücre migrasyonu, anjiyogenez ve apoptoz gibi farklı hücre fonksiyonlarına ek olarak nörotransmitter ve insülin salınımını etkiler, membran potansiyeli ve hücre uyarılabilirliğinin kontrolünü sağlamaktadır. Potasyum kanalları bu fizyolojik özellikleri sayesinde çok sayıda hastalık için terapötik hedef olarak görev yapmaktadır. Kanalların işlev bozukluklarında tümör ilerlemesi ve maligniteye neden olurken alzheimer, Parkinson hastalığı ve benzeri bazı ciddi hastalıklara da neden olabilmektedir (Comes vd., 2015; Tian vd., 2014)

Amiodaron, ilk olarak antianjinal tedavi için geliştirilmiş olsada, 1969 yılında antiaritmik etkisi keşfedilmiştir. 1985 yılında yaşamı tehdit eden ventriküler aritmi tedavisi için Food and Drug Administration (FDA) onayı alan, sınıf III antiaritmik bir ilaç olarak kategorize edilmektedir. Amiodaronun, vazodilatasyon, fosfolipaz inhibisyonu, tiroid hormon metabolizmasının seçici inhibisyonu ve iyon kanal bloklaması gibi farklı farmakolojik aktiviteleri de mevcuttur bilinmektedir (Kozlik, 2003; Chow vd., 1996). Amiodaron'un ana metaboliti desetilamiodarondur ve sitokrom P450 (CYP450) enzim grubu tarafından metabolize edilir. Lipofilik yapıda olan Amiodaron, kan dolaşımı yerine büyük oranda yağ dokusu, karaciğer ve akciğer dokularında depolanmaktadır (Kozlik, 2003; Chow vd., 1996; Ha vd., 2005; Zaidel, 2019). Klinik öncesi yapılan çalışmalarda, Amiodaron'un birçok kanser türünde ilaç direncini tersine çevirebildiği ve hem tek bir ajan olarak hem de farklı kanser ilaçları ile kombine halde sitotoksik etkiler sergilediği gösterilmiştir (Steinberg vd., 2020).

Bu tez kapsamında meme kanserinin tedavisinde sıklıkla kullanılan trastuzumab ile potasyum kanal blokeri ve antiaritmik bir ilaç olan amiodaron'un birlikte kullanımının MDA-MB-231 ve MCF-7 meme kanseri ile MCF-10A ve HUVEC epitel ve endotel hücreleri üzerindeki olası sitotoksik ve antianjiyogenik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Bu kombinasyon çalışmasının birçok çalışmaya ve onkoloji birimlerinde kullanımına ön bulgu olarak yol gösterici olacağını umut etmekteyiz.

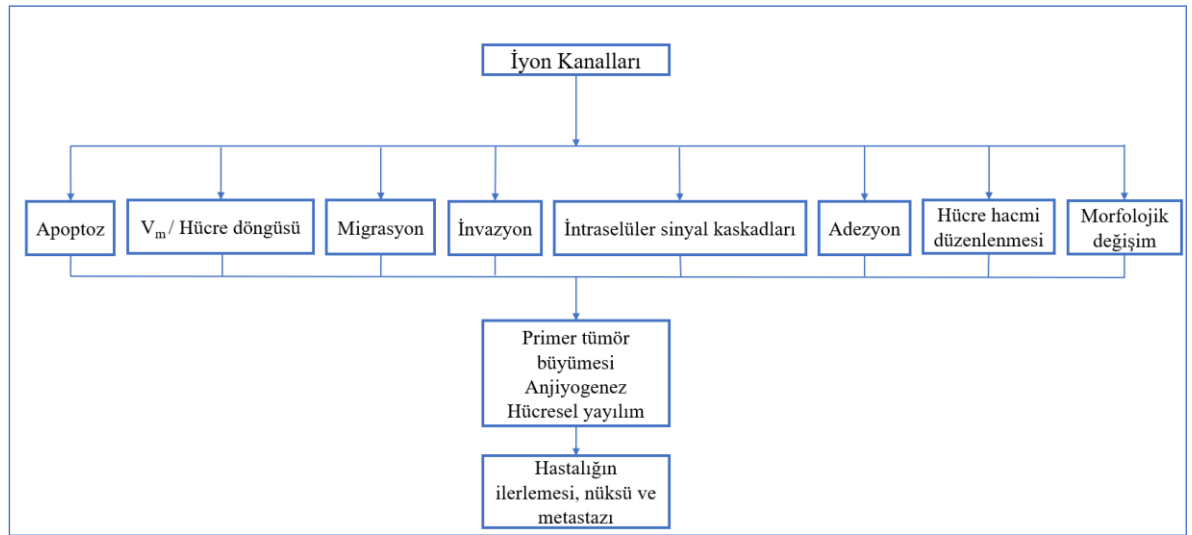
2. KAYNAK TARAMASI

2.1. İyon Kanalları

İyon kanalları, intrasellüler ve ekstrasellüler ortamlar arasında membranda 3-5Å çapta oluşturdukları delikler aracılığıyla spesifik iyonların geçişine olanak sağlarlar. İyonların membrandaki bu hareketleri evrimsel olarak korunmuş olup yaşam için önemli işlevlere sahiptir (Akay vd. 2010.; Kondratskyi vd., 2015). İyon kanallarının işlevleri arasında endokrin fonksiyonu (adrenaller, gonadlar, hipofiz, pankreas), kasılmalar (kalp kası, iskelet kası, düz kas), nöronal uyarılabilirlik, hücre hacmi regülasyonu, hücresel göç ve hücre proliferasyonu gibi hücresel süreçler yer almaktadır (Brackenbury 2016; Weir 2020).

İyon kanalları geçiş mekanizmalarına göre iki ana kategoriye ayrılabilir. 1) Voltaj kapılı iyon kanalları: membran potansiyel değişikliklerine bağlı olarak kanalın açılıp kapanması gerçekleşir. Bu kanallar aktive olduklarında belirli iyonları iletirler. 2) Ligand kapılı iyon kanalları: Büyük glikoprotein alt birimlerinden oluşturulan multimerik proteinlerdir. İyon kanalı üzerindeki bir reseptöre (direkt) ya da ayrı bir reseptöre (indirekt) bir ligandın (kimyasal molekül, nörotransmitter vb.) bağlanmasıyla aktive edilir ve işlevini gerçekleştirir. Bu grup iyon kanalları genellikle genel anestezikler, trankilizan (anksiyolitikler), antiemetikler ve nöromusküler bloke edici ilaçlar tarafından modülasyona duyarlıdır. Patolojik koşullarda iyon kanallarının işlevleri veya özellikleri değişebilir. Bu işlevlerin bazıları, kanser hücresinin hayatta kalması ve metastazı için kritik öneme sahiptir (Erdoğan 2018; Lang ve Stournaras 2014; Li ve Xiong 2011.; Weir 2020).

Neoplastik ilerlemede iyon kanalları, Hanahan ve Weinberg (2011)'in belirtmiş olduğu büyümeyi inhibe edecek sinyallere karşı duyarsızlık, invazyon ve metastaz, anjiyogenez, apoptozdan kaçma gibi ayırt edici özelliklere de katkı sağlamaktadır. Kanser gelişimine ve ilerlemesine yardımcı olan bu kanallar onkojenik kanallar olarak tanımlanmaktadır (Hanahan ve Weinberg, 2011; Leanza vd., 2016).



Şekil 2.1. Kanser ilerlemesinde iyon kanallarının çoklu rolleri (Brackenbury 2016'dan uyarlanmıştır)

Kanser hücrelerinde, hücre döngüsünün çeşitli aşamaları sırasında hücre hacminde değişiklikler meydana gelmektedir. Hücre hacmi esas olarak potasyum, kalsiyum, sodyum ve klorür gibi iyonlar tarafından düzenlenir. Ca^{+2} , Na^{+} ve K^{+} gibi iyon kanalları, bazı önemli hayatta kalma sinyal yollarını ve membran potansiyelini düzenleyerek kanser hücresi proliferasyonunu kontrol eder. Kanserdeki bu işlevlerine rağmen, kanser tedavisi için iyon kanallarını hedeflemek üzere özel olarak tasarlanmış herhangi bir ilaç henüz mevcut değildir. Çeşitli hastalıkların patofizyolojisindeki rolü bilinen iyon kanallarını hedef alan, bu hastalıkları tedavi edecek ilaç formları zamanla geliştirilmiştir. Bu tedavilerde kullanılanlar arasında birçok antiepileptik ve migren ilaçları, lokal anestezikler, antipsikotikler, antiaritmikler, antihipertansifler ve oral hipoglisemik ajanlar sayılabilir. Klinik olarak onaylanmış bu ilaçlar, zaman, bilinen güvenlik profili, insanlar üzerinde anlaşılmış farmakokinetik mekanizma ve ekonomik yönleriyle kolaylık sağlayacağı için kanser tedavisi için yeniden kullanılabilir. İyon kanalları, normal hücrede ve kanser hücresinde farklı şekillerde eksprese ediliyor bu anormal ekspresyon malign dönüşüme ilişkin araştırmalarda yeni biyobelirteç olarak da kullanılabilir (Cannon, 2007; Erdoğan, 2018; Kale vd., 2015; Lastraioli vd., 2015).

2.1.1 Potasyum İyon Kanalları

Potasyum iyon kanalları, hücre zarı üzerinde bulunmaktadır. İntrasellüler ve ekstrasellüler ortamlar arasında potasyum (K^{+}) iyon akışını kontrol eden transmembran proteinlerdir (Emre, 2020; Kondratskyi vd., 2015). Potasyum kanallarını kodlayan genler hem bitki hem de hayvan başta olmak üzere birçok hücre türünde mevcuttur. Sıkı bir şekilde kontrol edilen potasyum kanalları, aktif bölgesi tarafında yer alan seçici filtre sayesinde potasyum iyonlarını iletir. Bu seçici filtre, sodyum (Na^{+}) iyonlarının geçişini engellerken K^{+} iyonlarının geçişine izin vermektedir. Bu işlevi, K^{+} kanallarının ayırt edici bir özelliğidir. Potasyum kanalları, sodyum kanallarına kıyasla çok daha seçicidir ve 10.000 kat daha geçirgendir (Emre, 2020; MacKinnon, 2003). İyon kanalları içerisinde en yaygın olan potasyum iyon kanalları, yapısal ölçütlere, iletkenlik özelliklerine, hücre zarındaki moleküler düzenine ve farmakolojik yapılarının farklılığına göre dört alt gruptan oluşmaktadır. Bunlar sırasıyla voltaj kapılı potasyum kanalı (K_v), içeriye doğrultucu potasyum kanalı (K_{ir}), kalsiyum (Ca^{+2}) ile aktive edilmiş potasyum kanalı (KCa) ve iki gözenekli ($K2P$) potasyum kanallarıdır (Emre, 2020; Kale vd., 2015; Kondratskyi vd., 2015).

Voltaj kapılı potasyum kanalları (K_v), hücre membranında potasyum iyonlarının geçişi için transmembran voltajındaki değişikliklere yanıt olarak açılıp kapanan kapılardır. K_v kanalları, 40 gen tarafından kodlanıp 12 alt grup (K_v1-K_v12) ile en büyük K^{+} kanalı sınıfını oluşturmaktadır. Bu kanallar dört α alt gruptan oluşur ve her bir alt grupta 6 transmembran segment ($S1-S6$)'ten oluşmaktadır. Burada yer alan $S1-S4$ segmentleri voltaj sensörleri gibi işleve sahipken, $S5$ ve $S6$ segmentleri K^{+} iyonunun geçiş yaptığı kapı bölümünü oluşturmaktadır. $S4$ segmenti pozitif yüklü aminoasitleri içermekte ve bu kanalın voltaja bağımlı olarak açılıp kapanması için sensör işlevi görmektedir. Bundan dolayı kapı ve voltaj sensörü fonksiyonel olarak bağlantılı çalışmaktadır. Zarın depolarizasyonu durumunda voltaj sensörü kapı bölümüne sinyal gönderip bunun sonucunda kanal kapısının açılmasını sağlamaktadır. Voltaj kapılı potasyum kanallarının işlevleri arasında, apoptoz düzenlenmesi, hücre proliferasyonu, adezyon, endokrin fonksiyonu, kardiyak aktivitenin düzenlenmesi, hücrel göç ve hücre hacmi regülasyonu yer almaktadır. Bu işlevler kanser hücrelerinin oluşumuyla da ilişkili

olmasından dolayı Kv kanallarının işlevlerindeki herhangi bir değişim veya fazla ekspresyon sağlıklı hücrelerde onkojenik etki yapabileceğini göstermektedir. Voltaj kapılı potasyum kanallarının mekanizması ve işlevlerinin anlaşılması buradaki mutasyonlarla ilişkili hastalıkların nedenlerini belirlemekte ve yeni tedavi yöntemleri geliştirmek için önemli bir konuma sahiptir (Coşan vd., 2017; Emre, 2020; Grizel vd., 2014; Zúñiga vd., 2022). İçeriye doğrultucu potasyum kanalları (Kır), dört alt birimden oluşup iki transmembran α -helix yapısı içermektedir aynı zamanda yapısal olarak en basit iyon kanalı grubuna dahildir. İçeriye doğrultucu potasyum kanalları yapısal olarak 7 alt gruptan oluşmaktadır. Kır kanalları, hiperpolarizasyonla aktive edilmekte olup kanalın işlevi zar potansiyeli ve hücre dışı potasyum konsantrasyonu ile düzenlenmektedir. Bu kanalın fonksiyonları arasında kardiyak ve nöral hücre aktivitesinin modülasyonu, insülin salgılanması ve epitelyal K^+ taşınması yer almaktadır. Bu kanallar nöronlar, endotel ve glial hücreler, kan hücreleri, miyositler ve oositler gibi birçok hücrede ifade edilmektedir (Emre, 2020; Richter-Laskowska vd., 2023). Kalsiyum (Ca^{+2}) ile aktive edilmiş potasyum kanalları (KCa), hücre içi Ca^{+2} iyon konsantrasyonunda oluşan artış ve membran potansiyelinin hiperpolarizasyonundaki değişikliklerle aktive olmaktadır. İletkenlik özelliğine göre büyük (BK), orta (IK), küçük (SK) olmak üzere üç alt üniteye ayrılmaktadır. Buradaki gruplar doku dağılımlarına ve farmakolojik özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. BK kanalları, nöronlar, mikroglialar, astrositler ve miyositlerde ifade edilmektedir. IK kanalları, kan, epitel hücreleri ve periferik nöronlarda ifade edilmektedir. SK kanalları ise merkezi ve periferik sinir sisteminde ifade edilmektedir. Ayrıca KCa kanalları kalpte de eksprese edilmektedir ve özellikle atriyal miyosit ve atriyoventriküler düğümde kardiyak aksiyon potansiyelinin repolarizasyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (Brown vd., 2020; Emre, 2020; Trombetta-Lima vd., 2020). Yaklaşık 25 yıl önce keşfedilen iki gözenekli potasyum kanalları (K2P), potasyum iyon kanallarının en yeni grubu olarak bilinmektedir. Yapı ve fonksiyonel özelliklerine göre 6 aileden oluşan 15 K2P kanalı vardır. İki gözenekli potasyum kanalları, çeşitli organ ve dokularda yaygın olarak ifade edilmektedir. Bu kanallar, miyelinli aksonlarda aksiyon potansiyel yayılımı, kalp ritminin düzenlenmesi, uyku süresi, göz içi basıncının düzenlenmesi, nöro ve kardiyoprotektif etki, apoptozis gibi birçok fizyolojik süreçte rol oynamaktadır. Fizyolojide oynadığı temel roller, bu kanalın yer aldığı doku ve organlardaki fonksiyonlarının önemini açıklamaktadır. K2P kanalları, ağrı, aritmi, depresyon, migren, inflamasyon, kanser de dahil olmak üzere birçok patolojik durumu hedefleyen yeni terapötikler için umut verici bir hedef olmaktadır (Emre, 2020; Kamuene vd., 2021; Natale vd., 2021).

Potasyum iyon kanalları, nörotransmitterlerin salınımı, nöronların ve kas dokusunun uyarılabilirliğinin düzenlenmesi, hücre proliferasyonu ve sinyal iletimi, insülin salgılanması, hücre hacminin düzenlenmesi ve apoptoz gibi çok sayıda fizyolojik süreçte rol oynamaktadır (Emre, 2020; Kondratskyi vd., 2015; Zúñiga vd., 2022). Aynı zamanda potasyum kanalları, nöronal ve kardiyak hücrelerinin uyarılabilirliğini etkileyen kalıtsal hastalıklarda (epilepsi, kalp ritim bozuklukları), pankreasta bulunan β -hücrelerinden insülinin kontrol edilmeden salınımı (konjenital hiperinsülinizm), duyu organlarında gerçekleşen hasarlar (sağırılık, körlük) ve bazı kanser türleri (rahim, gliom benzeri, prostat ve kolorektal kanserler) gibi patolojik süreçlerde de rol oynamaktadır. Genomik, transkripsiyonel, translasyon sonrası veya epigenetik değişikliklere bağlı olarak potasyum kanallarının aşırı ekspresyonu bazı kanser türlerinde büyümeyi inhibe edecek sinyallere karşı duyarsızlık, apoptozdan kaçma, anjiyogenez ve metastaz gibi

süreçleriyle ilişkilendirilmektedir (Emre, 2020; Kale vd., 2015; Leanza vd., 2016). Son yıllarda iyon kanalları içerisinde özellikle potasyum iyon kanalları kanser tedavisi için moleküler bir hedef olarak görülmektedir. Potasyum kanal blokerleri olarak kullanılan ilaç grupları arasında antihipertansifler, antiaritmikler, anestezikler, antidepresanlar, antihistaminikler, analjezikler yer almaktadır. Potasyum kanal blokerleri ile yapılan çalışmalarda, bu ilaçların tümör proliferasyonunu doğrudan inhibe ederek veya kombine bir terapötik yöntem olarak kemoterapötik ilaçların etkinliğini arttırarak antitümör aktivite gösterdiğini belirtmektedir (Ganser vd., 2021; Zúñiga vd., 2022).

2.1.2 Amiodaron

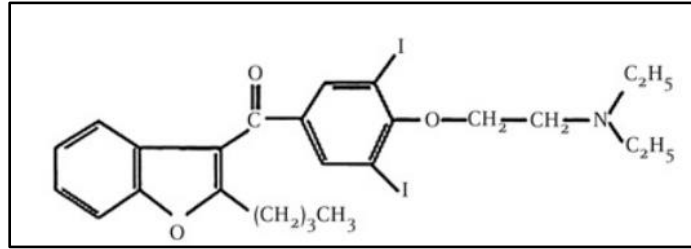
Amiodaron, ilk olarak 1961 yılında antianjinal etkiye sahip bir ilaç olarak kullanılsa da, 1969 yılında antiaritmik etkisi keşfedilmiştir. Food and Drug Administration (FDA), 1985 yılında yaşamı tehdit eden ventriküler aritmi tedavisi için amiodaron kullanımını onayladı. Kullanım onayının ardından günümüze kadar klinik kullanımda iyi bilinen ve etkili olan Vaughan Williams sınıflandırmasından sınıf III antiaritmik bir ilaçtır (Çizelge 2.1.) (Hamilton vd., 2020; Kozlik, 2003; Mali vd., 2014; Steinberg vd., 2020).

Çizelge 2.1. Antiaritmik tedavi için Vaughan Williams sınıflandırma sistemi (Barton vd., 2020'den uyarlanmıştır)

Vaughan Williams Antiaritmik Sınıflandırılması		
Sınıf	Etki Mekanizması	İlaçlar
Sınıf I	Sodyum Kanal Blokerleri	
Ia		Prokainamid Kinidin
Ib		Meksiletin Lidokain
Ic		Flekainid Propafenon
Sınıf II	β - Blokerler	Bisoprolol Karvedilol
Sınıf III	Potasyum Kanal Blokerleri	Amiodaron Sotalol
Sınıf IV	Kalsiyum Kanal Blokerleri	Verapamil Diltiazem
Sınıf V	Diğer Ajanlar	Digoksin Adenozin

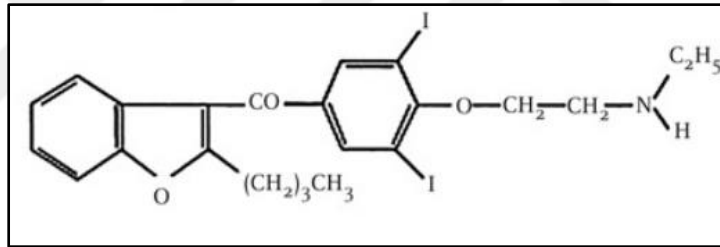
Amiodaron, aksiyon potansiyelinin 3. fazında repolarizasyondan sorumlu potasyum kanallarını bloke ederek etkin refrakter periyodunu uzatır yani iyon kanalını bloke ederek antiaritmik kalp hastalıklarının tedavisinde etkin olarak kullanılmaktadır (Steinberg vd., 2020; Zaidel, 2019). Bu etkisinin yanı sıra vazodilatasyon, fosfolipaz

inhibisyonu, tiroid hormon metabolizmasının seçici inhibisyonu gibi farklı farmakolojik aktivitelere de sahiptir (Chow vd., 1996). Amiodaron, moleküler formülü $C_{25}H_{29}I_2NO_3$ ve moleküler ağırlığı 681.8 g/mol olan benzofuran türevidir (Şekil 2.2.) (Mali vd., 2014).



Şekil 2.2. Amiodaron yapısal formülü (Van Erven ve Schaliş 2010'dan alınmıştır.)

Amiodaronun oral biyoyararlanımı %30-50 oranında olup yemekle birlikte alındığında emilim hızı artmaktadır ayrıca oral kullanımı haricinde intravenöz olarak da kullanılmaktadır. (Hamilton vd., 2020; Zaidel, 2019). Amiodaron, insan plazma proteinlerine yüksek oranda bağlanır ve lipofilik özelliğe sahiptir. Bu özelliğinden dolayı yağ dokusu, karaciğer ve akciğer gibi dokularda birikmektedir (Ha vd., 2005; Vyskocilova vd., 2017). Amiodaron, karaciğerde CYP3A4 aracılığıyla aktif bir metabolit olan desetilamiodaron'a metabolize olur (Şekil 2.3.) (Hamilton vd., 2020; Zaidel, 2019).



Şekil 2.3. Desetilamiodaron yapısal formülü (Van Erven ve Schaliş 2010'dan alınmıştır.)

Dünya çapında yaygın kullanımı nedeniyle amiodaron ve kanser ilişkili raporlar mevcuttur. Potasyum iyon kanalının inhibisyonu, hücre proliferasyonunda önemli bir sinyal düzenleyici olan PI3K/AKT yolağını etkilemektedir. Lipofilik bir ilaç olan amiodaron, hücre zarına nüfuz edebilir ve muhtemelen mitokondriyal zara da erişebilmektedir. Yapılan çalışmalarda hücre içi amiodaron birikiminin meydana geldiği gösterilmiştir. Ayrıca potasyum kanal inhibisyonu reaktif oksijen türlerinin salınmasını indükler ve apoptozun arttırılmasını sağlamaktadır (Ketchem vd., 2018). Yapılan klinik öncesi çalışmalarda amiodaron'un çeşitli kanser türlerinde çoklu ilaç direncini tersine çevirdiği gösterilmiştir. Bu çalışmaların yanı sıra prostat, hepatoselüler ve meme kansinimleri dahil olmak üzere farklı kanserler üzerinde tek bir ajan olarak ya da farklı kemoterapötik ajanlarla kombinasyon yapılarak kullanılması etkili bir kanser önleyici tedavi olabileceğini göstermektedir (Mali vd., 2014; Steinberg vd., 2020).

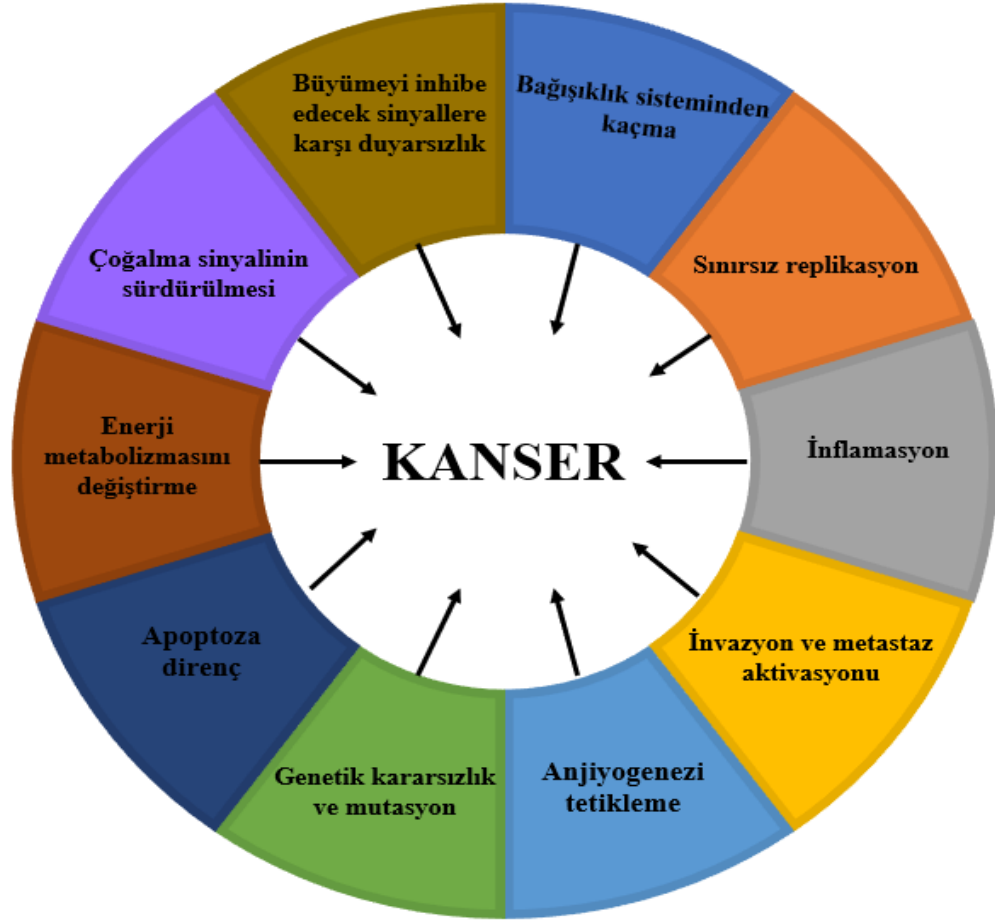
2.2. Kanser

Kanser, dünyada mortalite oranı olarak kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer almaktadır. 2020 senesinde tahmini 19,3 milyon kişinin yeni kanser tanısı aldığı ve 10 milyon kişinin ise kanserden öldükleri tespit edilmiştir. Dünyada

yaklaşık olarak 6 ölümden biri, ülkemizde ise 5 ölümden biri kanserden kaynaklanmaktadır. Erkeklerde sırasıyla akciğer, prostat ve kolorektal kanserin görülme sıklığı ülkemizde ve dünyada benzerlik göstermektedir. Kadınlarda ise dünyada görülme sıklığına göre sırasıyla meme, kolorektal, akciğer kanseri yer almaktadır. Ülkemizde ise bu sıralama meme, tiroit, kolorektal olarak değişmektedir. Ülkemizde kadınlarda tanımlanan kanserler içerisinde görülme sıklığına göre her 4 kadından birinin meme kanseri olduğu, her 10 kadından birini ise kolorektal kanser olduğu bilinmektedir (Baran Deniz, 2022; Ferlay vd., 2021).

Kanser, hücresel DNA'daki bilgi bozukluğu ile ortaya çıkan ve anormal gen ekspresyonuna neden olan genetik bir hastalıktır. Bu anormal ekspresyonun sonucunda, sağlıklı hücrelerin büyüme, hayatta kalma ve invazyon/motilite gibi fonksiyonlarını kontrol eden genlerin işlevleri artarken, bu fonksiyonları baskılayan genlerin işlevleri ise inhibe edilir. Kanser hastalığının ortaya çıkabilmesi için sadece bu özellikler yeterli değildir büyüme sinyallerine ihtiyaç duymama, büyümeyi inhibe edecek sinyallere karşı duyarsızlık, invazyon ve metastaz, anjiyogenez, apoptozdan kaçma, sınırsız replikasyon, genom kararsızlığı ve mutasyon, enerji metabolizması farklılaşması, immün sistemden kaçış ve inflamasyon gibi ayırt edici özelliklerinde olması gerekmektedir (Şekil 2.4.) (Hanahan ve Weinberg, 2011; Aliustaoğlu, 2009; Nenclares ve Harrington, 2020).

Tümör baskılayıcı genler, onkogenler ve DNA tamir genleri kanser gelişiminde önemli role sahip olan 3 gen ailesidir. Hücre proliferasyonunu, hayatta kalmasını ve invazyon/motilitesini düzenleyen proto-onkogenler, mutasyonlarla onkogen haline dönüşmektedir. Proto-onkogenlerin mutasyona uğramış kopyaları, kanseri teşvik etmek için yeterli bir faktördür. Günümüze kadar Ras, Erk ve Myc gibi 50-60 onkogen tanımlanmıştır. Onkogenlere dönüşümle birlikte hücre büyümesinin kontrol mekanizması bozulmakta ve hücrelerin kontrolsüz proliferasyonlarına ve büyümelerine yol açarak kanser patogeneğinde önemli rol oynamaktadırlar. Tümör baskılayıcı genler normal hücrelerde proliferasyonu ve bölünmeyi kontrol ederek kanser gelişimini engellemektedirler. Tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar işlev kaybına yol açarak hücre döngüsünde kontrol kaybolmasına ve hücrenin kontrolsüz çoğalmasına neden olmaktadır. Retinoblastoma (Rb) ve P53 genleri tümör baskılayıcı genlere örnektir. DNA tamir genleri ise hücre döngüsü sırasında ortaya çıkan genetik hasarları ortadan kaldırmaktadır. Yapılan tamirin başarısız olduğu durumlarda ise hücreleri apoptotik veya nekrotik yollarla yok ederek kanser hücrelerinin oluşmasını önlemektedir. Kanser oluşumundaki diğer faktörler ise alkol ve tütün ürünlerinin kullanımı, beslenme alışkanlıkları, kimyasallar, virüsler, radyasyona maruziyet ve çevresel faktörler gibi birçok örnekten oluşmaktadır (Baykara, 2016; Aliustaoğlu, 2009; Kontomanolis vd., 2020; Nenclares ve Harrington, 2020; Yokuş ve Çakır 2012)



Şekil 2.4. Kanser hücrelerinin ayırt edici özellikleri (Hanahan ve Weinberg 2011)

2.2.1. Apoptoz

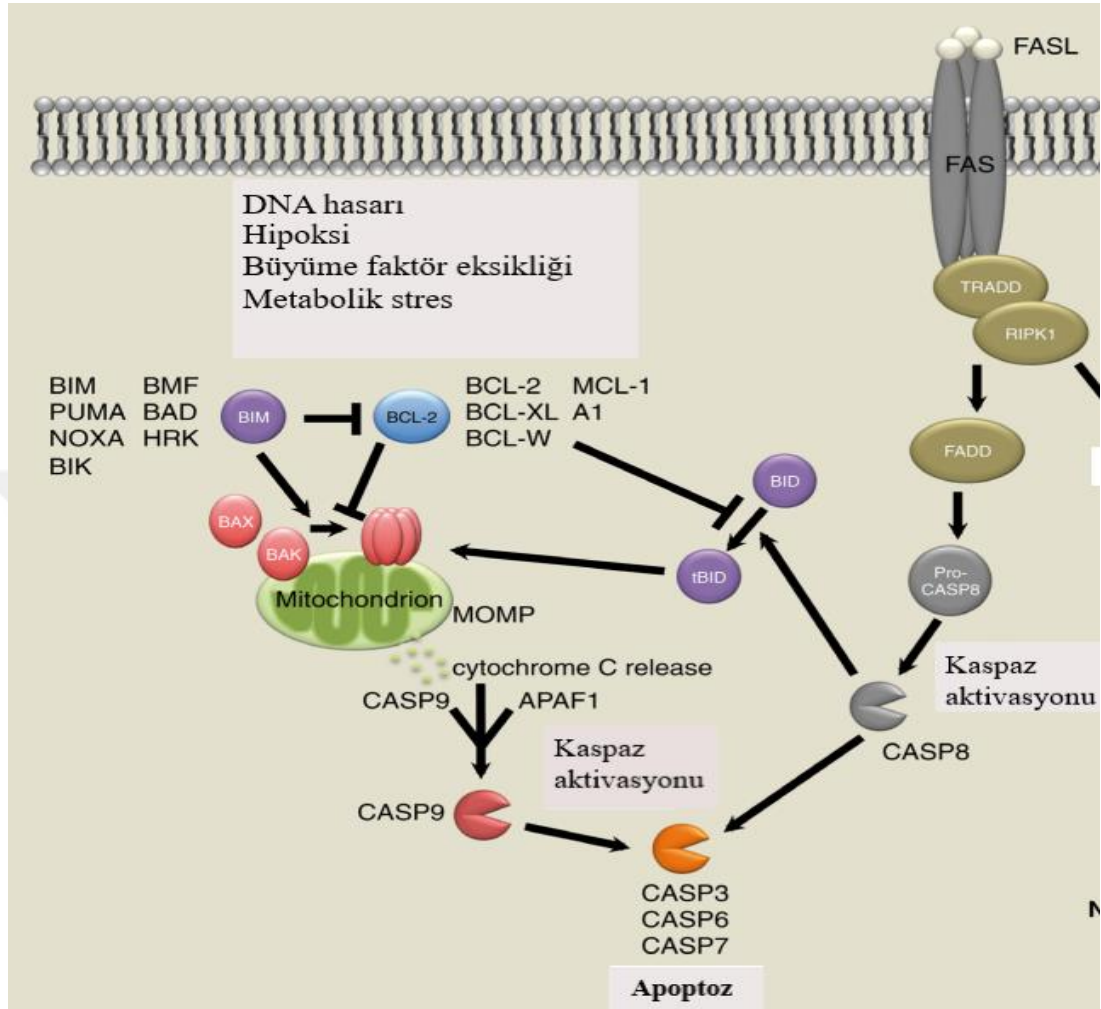
Apoptoz, fizyolojik ve morfolojik özellikleri olan farklı mekanizmalarla çalışan programlanmış hücre ölümüdür. Apoptoz kelimesi ilk defa Kerr ve arkadaşları tarafından 1972 senesinde morfolojik olarak farklı bir hücre ölüm tipini tanımlamak için kullanılmıştır. Organizmanın gelişmesi, proliferasyonu, farklılaşması, homeostazi ve immün sistemdeki hatalı hücrelerin yok edilmesi gibi birden fazla fizyolojik süreçte rol oynamaktadır. Apoptoz hem hücre içi hem de hücre dışı sinyaller tarafından aktive edilir. Hücre içi sinyalleri arasında DNA hasarı, büyüme faktörü eksikliği ve sitokin eksikliği yer alırken, en yaygın hücre dışı sinyaller ise hasar görmüş veya enfekte olmuş hücrelere yanıt olarak bağışıklık sisteminden sitotoksik T hücreleri tarafından üretilen ve ölüme neden olan sinyaller yer almaktadır. Apoptoziste 5 farklı yolak mevcuttur. Bunlar intrinsik yolak, ekstrinsik yolak, DNA hasarı nedeniyle p53 ile aktive olan kaspaz 2 bağımlı yolak, kaspazın doğrudan aktivasyonu ile granzim-B yolağı ve DNA fragmentasyonu ile aktive olan granzim-A yolağıdır. Bu yollar arasında intrinsik apoptotik yolak ve ekstrinsik apoptotik yolak en önemli iki basamaktır (Şekil 2.5.) (D'Arcy, 2019; Celepli vd., 2020; Dağdeviren, 2021; Pfeffer ve Singh, 2018).

Apoptoz mekanizmasında görev alan gruplar arasında Fas, Fas-ligand (FasL), BCL-2, p53 ve kaspazlar yer almaktadır. İntrinsik yolak, mitokondriyal zar geçirgenliğini kontrol eden proapoptotik ve antiapoptotik proteinleri içeren Bcl-2 ailesi tarafından düzenlenmektedir. Proapoptotik proteinlerin fazla olduğu ortamda hücre apoptoza eğilimli olmaktadır. Bu proteinler sitozolde yer almakta olup AIF (apoptoz indükleyici faktör) ve sitokrom-c'nin salınımını artırarak apoptozu indüklemektedir. Antiapoptotik proteinlerin dahafazla olduğu durumda ise hücre apoptoza az eğilim göstermektedir. Mitokondrinin dış zarında, endoplazmik retikulumda ve çekirdek zarında bulunmaktadır. Hücrelerde kalsiyum miktarını kontrol ederek AIF, sitokrom-c salınımını azaltıp apoptozu inhibe etmektedir. Apoptoz mekanizmasının aktivasyonu bu proteinlerin arasındaki dengeye bağlıdır. Apoptoz mekanizması ve inflamasyonda kaspazlar (sistein aspartat spesifik proteazlar) önemli bir role sahiptirler. Kaspazlar inaktif formda bulunur ve apoptozun indüklenmesinden sonra kesilerek aktif kaspaz formuna dönüşmektedirler. Apoptotik kaspazlar ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 13, 14) olarak iki gruba ayrılırlar. Apoptotik kaspazlar ise kendi içerisinde başlatıcı kaspazlar (kaspaz 2, 8, 9, 10) ve efektör kaspazlar (kaspaz 3, 6, 7) olarak sınıflandırılmaktadır (Babacan, 2023; Kartlaşmış vd., 2016; Dağdeviren, 2021).

DNA hasarı, hipoksi, yüksek sitozolik kalsiyum konsantrasyonları, endoplazmik retikulum stresi, fazla reaktif oksijen türlerinin olması ve büyüme faktör eksikliği gibi birçok neden intrinsik apoptotik yolağı tetiklemektedir. Apoptotik uyarı hücre içi sinyallerin alınmasıyla başlatılır. Pro-apoptotik protein olan Bid; antiapoptotik protein olan Bcl-2'yi inaktive eder ve böylece Bax ve Bak proteinleri aktive edilir. Bu aktivasyon sonucunda Bax ve Bak proteinleri mitokondri membranında por oluşumunu indükleyip mitokondri dışı membranın geçirgenliğinde değişikliğe neden olmaktadır. Bu porlardan sitokrom-c, Smac/Diablo, AIF, endonükleaz G salınımı uyarılır. Sitokrom-c, elektron taşıyarak oksidatif fosforilasyonu başlatır. Smac, inhibitör apoptotik faktör (IAF)'ü baskılar ve apoptozu hızlandırır. AIF 'ın çekirdeğe translokasyonu olup ve Endonükleaz-g DNA'yı parçalamaktadır. Sitokrom-c, Apoptotik proteaz aktive eden faktör-1 (APAF-1) ve prokaspaz-9 sitozolde Apoptozom denilen bir kompleks oluşturur ve apoptozom kaspaz 9'u aktiveleştirir. Aktive olan kaspaz-9 ise efektör kaspaz olarak bilinen kaspaz-3'ü aktive etmektedir. Kaspaz-3 ise inaktif kaspaz aktive edici DNaz (ICAD)'ı inaktif ederek serbest hale gelmektedir (Babacan, 2023; Bildik ve Bayar, 2018; Galluzzi vd., 2018; Dağdeviren, 2021).

Ekstrinsik yol olarak isimlendirilen bir diğer apoptoz yolu ise ölüm reseptörleri olarak bilinen hücre zarı proteinleri tarafından aktive edilir. Ölüm reseptörleri ve ligandları içerisinde FasL/FasR, tümör nekroz faktörü reseptörleri TNFR1 ve TNFR2 ve TNF ile ilişkili apoptozu indükleyen ligand (TRAIL) reseptörleri DR4 ve DR5 yer almaktadır. Hedefte bulunan hücrenin membranındaki ölüm reseptörüne ölüm sinyali bağlanarak aktive edilir. FAS, TNF ve DR5 gibi hücre yüzeyinde bulunan ölüm reseptörlerinin ölüm sinyalleri olan FasL, TNF- α ve TRAIL ile bağlanması sonucu ölüm reseptörleri trimerik bir yapı kazanmaktadır. Bu trimerik yapı prokaspazla birleşerek ölümü indükleyici sinyal kompleksi (DISC) adı verilen yapıyı oluşturmaktadır. Oluşan bu yapı inaktif durumdaki prokaspaz-8'i aktif formu olan kaspaz-8'e dönüştürmektedir. Kaspaz 8, doğrudan ya da dolaylı olarak kaspaz 3'ü aktive etmektedir. Doğrudan kaspaz-8 kaspaz-3'ü aktif forma dönüştürebilir ya da dolaylı olarak ise Bcl-2 ailesinin bir proapoptotik üyesi olan Bid'i keserek intrinsik apoptotik yoldan kaspaz-9'u sonrasında

kaspaz-3'ü aktive edebilir (Carneiro ve El-Deiry, 2020; Coşkun ve Özgür, 2011; Dağdeviren, 2021).



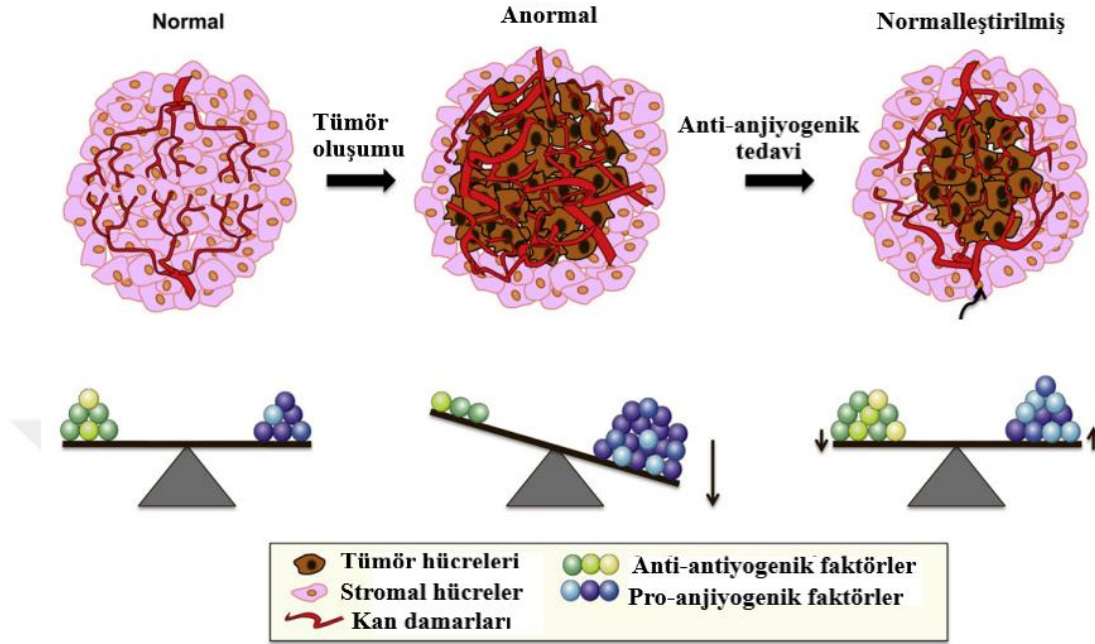
Şekil 2.5. İntrinsik ve Ekstrinsik apoptotik yolların şematik çizimi (Voss ve Strasser 2020'den uyarlanmıştır.)

2.2.2. Anjiyogenez

Anjiyogenez, önceden var olan damarlardan yeni damarların oluşum sürecidir. Yara iyileşmesi, embriyonik gelişim, menstrüasyon döngüsü gibi fizyolojik olaylarda ve diyabet, romatoid artrit, iskemik dolaşım bozuklukları ve kanser gibi çeşitli patolojik durumlarda da rol oynamaktadır (Hamutoğlu ve Önder, 2017; Teleanu vd., 2019).

Anjiyogenez mekanizmasının aktivasyonu, proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerinin arasındaki dengeye bağlıdır (Şekil 2.6.). Proanjiyogenik faktörler arasında VEGF, FGF, PDGF, TNF-a, EGF, IL-8 ve anjiyogenin yer almaktadır. Bu faktörler arasında en önemlisi VEGF ve VEGF A-B-C-D-E-F, PIGF olmak üzere yedi alt gruba ayrılmaktadır. Anjiyogenezde damar endotelini oluşturan endotel hücreleri temel hücrelerdir. VEGF, endotel hücrelerinde ve lenf damarlarında bulunan transmembran tirozin kinaz reseptörlerine bağlanmaktadır. Bağlandıktan sonra aktifleşen VEGF reseptörleri hücre içinde sinyal iletimi yapan proteinleri fosforilize etmektedir. Bu olaylar

sonucunda endotel hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü sağlamaktadır (Demirer vd., 2014; Hamutoğlu ve Önder, 2017; Konukoğlu ve Turhan, 2005).



Şekil 2.6. Pro-anjiyogenez faktörlerinin etkisi ile anti-anjiyogenez faktörlerinin etkisi arasındaki denge (Giuliano ve Pagès 2013'den uyarlanmıştır).

Hücrenin anjiyogenezi indüklemeye yeteneği, kanserin önemli ayırt edici özelliklerinden biridir. Kanser ile ilişkili anjiyogenez ilk kez 1971 yılında Folkman tarafından tanımlanmıştır. Tümör dokusu büyüme, invazyon ve metastaz için gerekli olan besin maddeleri ve oksijen için yeni damar oluşumuna ihtiyaç duyarlar. Tümör dokusu 1-2 mm³'lük boyuta ulaştıklarında daha fazla oksijen ve besin maddesi için anjiyogenezi uyarılmaktadır. Daha büyük boyutlara ulaşabilmek için anjiyogeneze ihtiyaç duyarlar. Son yıllarda anjiyogenez mekanizmasının daha çok aydınlatılmasıyla birlikte klinik uygulama için antianjiyogenik tedavilerinde geliştirilmesini beraberinde getirmiştir. Bir dizi molekül, anjiyogenezi önlemek veya durdurmak için inhibitör görevi görmektedir ve bunların arasında Endostatin, İnterferon, Prolaktin, Trombospondin-1, İnterlökin-12, Anjiyostatin, PF-4 yer almaktadır. Anjiyogenez inhibitörleri, tümörlerin yeni kan damarları geliştirmesini ve böylece büyüyüp yayılmasını engelleyen ilaç grubudur. Bu inhibitörler kanser hücrelerini direkt öldürmeyen ancak tümörün kan akışını destekleyen sinyalleri hedef alacak şekilde çalışmaktadır. Bu sebepten dolayı bu tedavi yöntemi tek başına değil kemoterapi, radyoterapi, cerrahi, immunoterapi veya hormonal tedaviyle kombine şekilde kullanılmaktadır (Al-Ostoot vd., 2021; Demirer vd., 2014; Günel vd., 2020).

2.2.3 MEME KANSERİ

Meme kanseri, dünya genelinde kadınlar arasında en yaygın görülen kanserdir. Meme kanseri insidansı, mortalitesi ve morbidite oranları nüfus yapısı, genetik yatkınlık,

çevre ve yaşam tarzı gibi birçok faktöre bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermektedir (Momenimovahed ve Salehiniya, 2019). Genellikle patolojik ve klinik özelliklerde farklılık gösteren Luminal-A, Luminal-B, Üçlü Negatif, insan epidermal büyüme faktör reseptör 2 (HER-2) olmak üzere dört ana gruba ayrılmaktadır. Luminal-A ve Luminal-B tümör modellemesini kolaylaştırmak, östrojen reseptörü (ER) ve HER-2 varlığında ilaç yanıtı analizlerini kolaylaştırmak için HER-2 seviyesine göre iki gruba ayrılmıştır. En sık görülen alt grup Luminal-A, östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) pozitif, HER-2 negatif ve Ki-67 eşik değeri düşüktür. Luminal-B hormon reseptörleri ve HER-2 pozitif, Ki-67 değeri ise yüksektir böylelikle luminal-A ve B arasındaki fark Ki67'nin yüksek ifadesi ile ayırt edilmektedir. Üçlü Negatif alt grubunda ise PR, ER ve HER2 reseptörleri negatiftir. HER-2, hormon reseptörleri negatif ve HER-2 reseptörünün aşırı ekspresyonu mevcuttur (Akyolcu vd., 2019; Lau vd., 2022; Ravi vd., 2019).

Tanısal, terapötik ve prognostik belirteçleri belirlemeye yönelik araştırmalar devam etmekte olup meme kanseri araştırmaları için farklı materyaller ve yöntemler mevcuttur. Bu materyallerden biri olan hücre hatları *in vitro* modeller olarak yaygın kullanılmaktadırlar. Meme kanseri hücre hattı olarak MCF-7 (ER+, PR+ veya luminal A) ve MDA-MB-231 (üçlü negatif) hücre hatları yaygın olarak kullanılmaktadır. Michigan Kanseri Vakfı'nda 1973 yılında Dr. Soule ve arkadaşları tarafından kurulan ve adını buradan alan MCF-7 hücreleri, metastatik hastalığı olan 69 yaşındaki bir kadının plevral efüzyonundan izole edilmiştir. Meme kanseri araştırmalarında *in vitro* deneyler için kullanılan MCF-7 en yaygın kullanılan hücre hattıdır. Meme kanseri hücrelerinin büyümesi sadece ER ve PR tarafından değil, aynı zamanda plazma zarı ile ilişkili büyüme faktörü reseptörleri tarafından da kontrol edilmektedir. Bu geniş ailenin özellikle önemli iki üyesi olan ve her ikisi de MCF-7 hücrelerinde bulunan EGFR ve HER-2'dir. MDA-MB-231 hücreleri ise MCF-7 hücrelerinin aksine daha agresif bir fenotip sergilemektedirler (Berzingi vd., 2016; Ravi vd., 2019; Comşa vd., 2015).

Cerrahi tedavi, kemoterapi ve radyasyon kanser tedavileri içerisinde yer almaktadır. Bu tedavi yöntemleri meme kanseri gibi birçok kanser türü için düşük sağkalım oranına ve sınırlı klinik sonuçlara sahiptir. Sağ kalım seviyesini arttırmak ve sınırlı klinik sonuçlara neden olan faktörleri düzenlemek için yeni tedavi yöntemleri araştırılmaktadır. Kemoterapi, kanser tedavisinde kullanılan klasik yöntemler arasında yer almakta ve çeşitli ajanlar kullanılarak kanser hücrelerinin gelişmesini ve çoğalmasını önlemektedir. Erken evrelerde kanser teşhisi konan hastaların yaklaşık olarak %50'si kemoterapi ile tedavi edilebilirken eğer teşhis hastalığın ileri evrelerinde konmuş ise tek başına kemoterapi hastalarının %10'undan daha azını tedavi edebilmektedir. Bu nedenle kemoterapi farklı tedaviler ile kombine edilerek, tedavi başarısı arttırılmaya çalışılmaktadır (Li ve Xiong, 2011; Çıtlak ve Kapucu, 2015; Chu ve Sartorelli, 2004).

Hedefe yönelik tedavinin amacı, ilaçları kanser hücrelerine veya kanser büyümesini destekleyen dokulara özgü belirli genlere veya proteinlere iletmektir. Kanser tedavilerindeki gelişmelerle birlikte bu hedefe yönelik tedaviler arasında monoklonal antikorlar yer almaktadır. Monoklonal antikorlar VEGF, EGFR, HER2 gibi büyüme faktörlerini, CD52 ve CD20 gibi antijenleri hedef almaktadır. Tedavinin etkinliği, normal dokulardaki hedef dışı yan etkileri en aza indirirken, hastalık bölgesini hedef almaya dayanır. Genellikle kemoterapi ve diğer kanser tedavileriyle birlikte kullanılmaktadırlar (Yazıcıoğlu vd., 2018; Padma, 2015).

Trastuzumab, 1998 senesinde FDA tarafından onaylanıp kullanımına başlanan ilk monoklonal antikordur (Bedard vd., 2009). Trastuzumab, meme kanseri hastalarının yaklaşık olarak %30'unda aşırı eksprese olan, HER-2'yi hedef almaktadır. Trastuzumab, yalnızca meme kanseri için değil HER-2 reseptörünün ifade edildiği mide kanseri için de kullanılmaktadır. Trastuzumab, HER-2 dimerizasyonunun engellenmesi, HER-2 reseptör düzeyinin azaltılması, p27 proteininin indüklenmesi ve anjiyogenez oluşumunun inhibe edilmesi gibi farklı mekanizmalarla antitümöral etki göstermektedir (Boekhout vd., 2011; Demirelli, 2005).



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Hücreler ve Kültür koşulları:

MCF-7 (ATCC® HTB-22™, östrojen reseptör pozitif insan meme kanseri), MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™, östrojen reseptör negatif insan meme kanseri hücre hattı), MCF-10A (ATCC CRL-10317, insan meme epitel hücre hattı) ve HUVEC (ATCC CRL-1730™, insan umbilikal endotel hücre hattı) hücre hatları Akdeniz Üniversitesi Biyoloji ABD, Kanser Moleküler Biyolojisi laboratuvarından temin edildi. MDA-MB-231, MCF-7 ve HUVEC hücreleri RPMI 1640 besiyerinde; MCF10A meme epitel hücreleri ise kendi özel besi yeri olan; MEGM büyüme kiti ilaveli MEMB (Memeli epitel bazal medium) besiyerinde açılarak, uygun hücre kültürü şartlarında çoğaltıldı. Hücreler 37°C'de ve %5 CO₂ olan ortamda inkübe edilerek ATCC de yer alan kılavuza göre hücreler %0.25 tripsin ve %0.03 EDTA karışımıyla kaldırıldı, 1:2 veya 1:3 oranlarında pasajlandı. Kullanılmayan hücreler ise hazırlanan özel solüsyon kullanılarak -80 °C'de derin dondurucuda muhafaza edildi.

3.2. Hücrelere Amiodaron ve Trastuzumab Kombinasyonunun Uygulanması:

Amiodaron ve Trastuzumab ilaçları sıvı ve toz formda eczaneden temin edildi. Hücreler stoktan açılarak küçük petri kaplarına ekilip petri kapları % 80 veya %90 oranında dolduğu zaman tripsin yardımıyla kaldırıldı ve 5000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara ekildi. 24 saatlik inkübasyon süresi bittiğinde besiyeri uzaklaştırıldı. Trastuzumab ve Amiodaron 150 µg/ml'den başlamak üzere 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2,5 ve 1 µg/ml doz aralığında olacak şekilde %1 FBS içeren besiyeri kullanılarak hazırlandı. İki ilaç kuyucuklara aynı anda uygulandıktan sonra başlangıç zamanı için bir sıra kuyucuktaki hücre canlılığı WST testi belirlendi. MCF-7, MDA-MB-231, MCF-10A ve HUVEC hücrelerinde 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde, ilaçların hücre canlılığı üzerindeki etkileri süre bitiminde belirtilen sitotoksikite testleri ile değerlendirildi. En etkili doz aralığı ve inkübasyon süresi belirlenip bu aralıkta kombinasyon çalışmaları yapıldı. İki ilacın etkileşimlerini kombinasyon verileri ile Compusyn programı kullanılarak değerlendirildi. Kombinasyon indeksi (KI), Sitotoksikite testlerinden elde edilen veriler kullanılarak hesaplandı ve kombinasyonun hücrelerdeki sinerjistik etkisi belirlenmiştir.

3.3. Sitotoksikite Testleri:

Amiodaron, Trastuzumab ve kombinasyonlarının hücreler üzerindeki etkileri aşağıda yeralan testler kullanılarak belirlenmiştir.

3.3.1. WST-8 Hücre Proliferasyon Kiti:

WST-8 hücre proliferasyon kiti (Katalog No: KTA1020) kullanılarak ilaçların sitotoksik etkisi araştırıldı. Test uygulaması için hücreler stoktan açılıp petri kaplarına ekildi ve petri kapları %80 veya %90 oranına ulaşınca tripsin yardımıyla kaldırılıp 1x10⁴ hücre/ kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu steril plaklara ekildi. 24 saatlik süre sonunda besiyerleri uzaklaştırıldı ve iki ilaç için dozlar 1 µg/ml'den başlamak üzere 0.5, 0.25, 0.125, 0.062, 0.031, 0.015, 0.0078, 0.0039 ve 0.0019 µg/ml olacak şekilde %1'lik FBS içeren besiyerinde hazırlanıp, kuyucuklara ekildi. Her kuyucukta 200 µl ilaç olacak

şekilde ayarlanıp sonrasında 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi boyunca %5 CO₂'li atmosferde 37°C'lik etüvde inkübe edildi. Mevcut kit uygulandı fakat bulunan doz aralığının hücre canlılığının %50 azalmasına sebep olan doz (IC₅₀) değerlerini hesaplamak için yeterli olmadığı tespit edildi. Yeni doz aralığı belirleyebilmek için bu sefer dozlar 150 µg/ml'den başlamak üzere 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2,5 ve 1µg/ml olarak belirlendi, dört hücre hattı için her bir kuyucuğa 100 µl ve 5000 hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilip uygulandı ve 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyona bırakıldı. Amiodaron için kullanılan yeni dozlarda IC₅₀ değeri belirlendi, Trastuzumab için farklı doz aralığı ve farklı hücre sayılarında deney tekrarı yeniden yapıldı. Elde edilen sonuçlarda IC₅₀ değerine ulaşılamadı. Bu sebeplerden dolayı trastuzumab için 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2,5 ve 1µg/ml; amiodaron için 5, 2,5, 1µg/ml etkili dozlar ile dört hücre hattı için her bir kuyucuğa 100 µl ve 5x10³ hücre/kuyucuk olacak şekilde ekilip uygulandı ve 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyona bırakıldı. Her bir inkübasyon süresinin ardından ve her deneyde ilaç bulunan besiyerleri çekilmeden, mevcut besiyerin üzerine 10 µl wst-8 solüsyonu eklenerek 3 saat bekletildi. Sonrasında elisa kit okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan Go), 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülüp kaydedildi.

3.3.2. Tripın Mavisi:

Elde edilen wst-8 sitotoksikite test sonuçlarını destekleyebilmek için hücre canlılığını doğrudan mikroskopik olarak belirleyebilen tripan mavisi (0.4 %; Hanks tuz-fosfat tamponu içerisinde) testi kullanıldı. Hücreler 5x10⁴ hücre/ kuyucuk olacak şekilde 24 kuyucuklu steril plaklara bölündü. 24 saatlik inkübasyon sonrasında besiyerleri uzaklaştırılarak; doz taraması sonrası belirlenen dozlarında ilaç içeren 1ml %1 serumlu besi yerleri uygulandı. Kontrol grubu olarak kullanılan kuyucuklara yalnızca %1 FBS içeren besiyeri uygulandı. İnkübasyon süreleri sonunda besiyerleri alınarak 1000 rpm'de 5 dk santrifüjlendi. Kuyucukların içerisine 200µl, tripsin-edta eklenerek hücreler plaklardan ayrılıp tüpteki çökeltinin üzerine eklendi. Karışım, 5000 rpm'de 10 dk santrifüjlendi. Süpernatant uzaklaştırıldı ve üzerine 250µl Tripan mavisi solüsyonu ve 250µl %1 besiyeri eklenerek peletler çözdürüldü. Örnekler buz içerisine alınıp, canlı ve ölü hücre sayıları ışık mikroskobu altında hemositometre kullanılarak belirlendi. Hücre içine tripan mavisi alıp almamasına bağlı olarak hücre canlılığı değerlendirilmiştir. Membran hasarı olan hücreler boyayı içlerine aldıkları için mavi renkte gözlemlenirken canlı hücrelerde boyanın içeri girişi söz konusu olmadığı için şeffaf renkte gözlemlenmiştir. Aşağıda verilen formüllerle de canlı hücrelerin miktarı hesaplandı.

$$\frac{\text{Toplam hücre sayısı}}{\text{ml}} = \left(\frac{\text{Toplam Hücre Sayısı}}{\text{Hemositometrede sayılan kare adedi}} \right) \times \text{Sulandırma faktörü} \times 10$$

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

Şekil 3.1. Canlı hücrelerin miktarının hesaplandığı formül

3.4. Kaspaz-3 Enzim Miktarının Araştırılması

MDA-MB-231, MCF-7, MCF-10A ve HUVEC hücreleri küçük petri kaplarına 1×10^6 olacak şekilde ekildi ve 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda hücrelerin besiyerleri çekildi. Hücrelere sinerjistik etki gösteren dozlarda %1 FBS içeren besiyeriyle hazırlanmış ilaçlar uygulandı. Her inkübasyon süresi sonunda besiyerleri çekilip falkonda 4000 rpm'de 15 dk santrifüjlendi. Petride kalan hücreler, Lizis tamponu içerisinde hücre kazıyıcısı ile kaldırıldıktan sonra falkonlardaki süpernatantlar uzaklaştırılıp üzerine kaldırılan hücreler eklendi. 5 dakika buz içerisinde 5 dakika oda sıcaklığında olmak üzere 3 defa tekrarlandı. 3. tekrarın sonunda -80°C derin dondurucuda 5 dakika bekletildi ve sonrasında 5 dk oda sıcaklığında çözündürüldü 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatantlar buz içerisinde bulunan ependorflara aktarıldı. Kaspaz-3 elisa kit protokolü (Kat no: EH0546) kullanılarak kaspaz-3 aktivitesi değerlendirildi.

3.5. VEGF Miktarının Araştırılması

MDA-MB-231, MCF-7, MCF-10A ve HUVEC hücreleri küçük petri kaplarına 1×10^6 olacak şekilde ekilip, 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. Sonrasında, yapışan hücrelerin besiyerleri çekilerek, hücrelere sinerjistik etki gösteren dozlarda %1 FBS besiyeri ile hazırlanmış ilaçlar uygulandı. Her inkübasyon süresi sonunda besiyerleri çekilip falkonda 4000 rpm'de 15 dk santrifüjlendi. Santrifüjden alınan süpernatant ependorfa aktarılıp -20°C de saklandı. Bu örnekler hücreden salınan VEGF miktarının araştırılmasında kullanıldı. VEGF kit protokolü (Kat no: EK0539) ile VEGF miktarı değerlendirildi.

3.6. İstatistiksel Analiz:

GraphPad InStat istatistik programında, Tek Yönlü Anova Testi ve ardından Dunnet Çoklu Karşılaştırma Testi ile sitotoksikite testlerindeki veriler kontrol ve diğer gruplar arasındaki farklılıklar kullanılarak değerlendirildi. Kaspaz-3 aktiviteleri ile ilgili deneylerden elde edilen veriler ise GraphPad InStat istatistik programında, Tek Yönlü Anova Testi ve Tukey çoklu karşılaştırma testiyle değerlendirildi. İlaçlarda belirlenen dozlarda kombinasyon yaptıktan sonra bunların etkilerini incelemek için Compusyn programı kullanılarak kombinasyon indeksleri hesaplandı ve etkileri belirlendi. Tüm veriler ortalama $\pm$ SEM değerleri halinde, Sigma Plot programıyla grafiklendirildi.

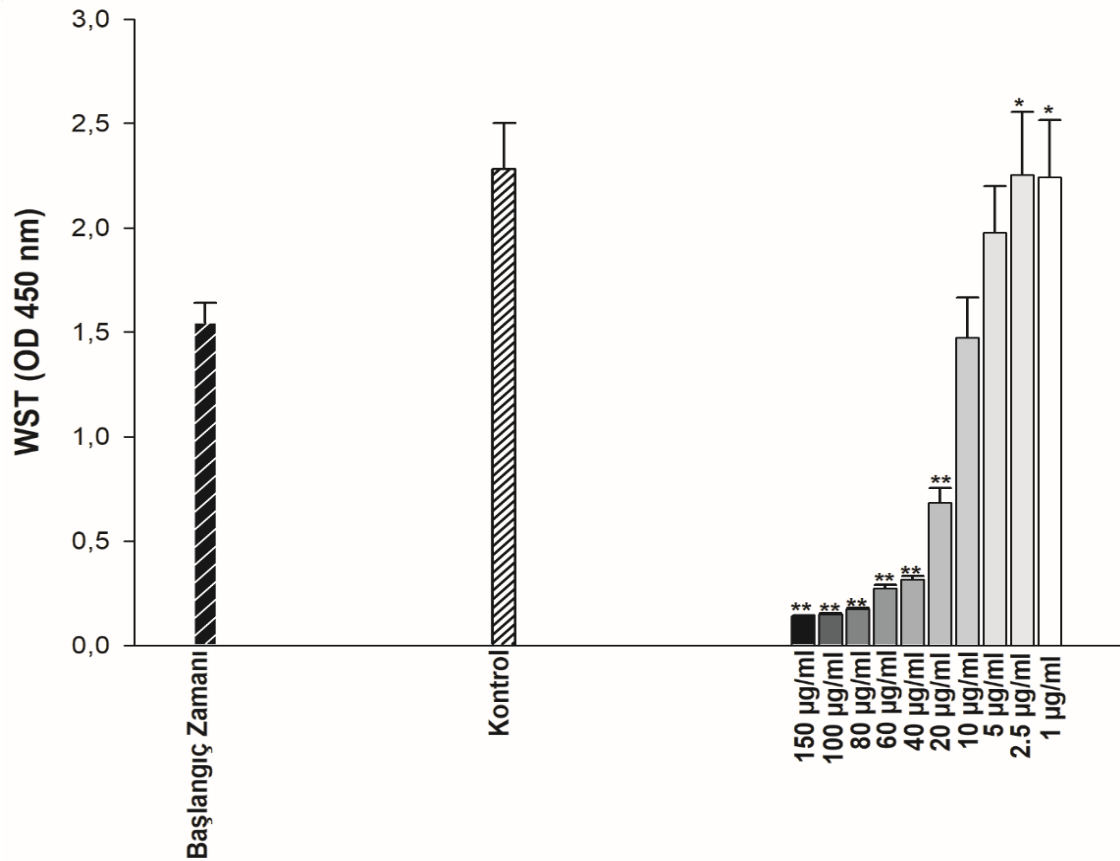
4. BULGULAR

4.1. MCF-7 Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri

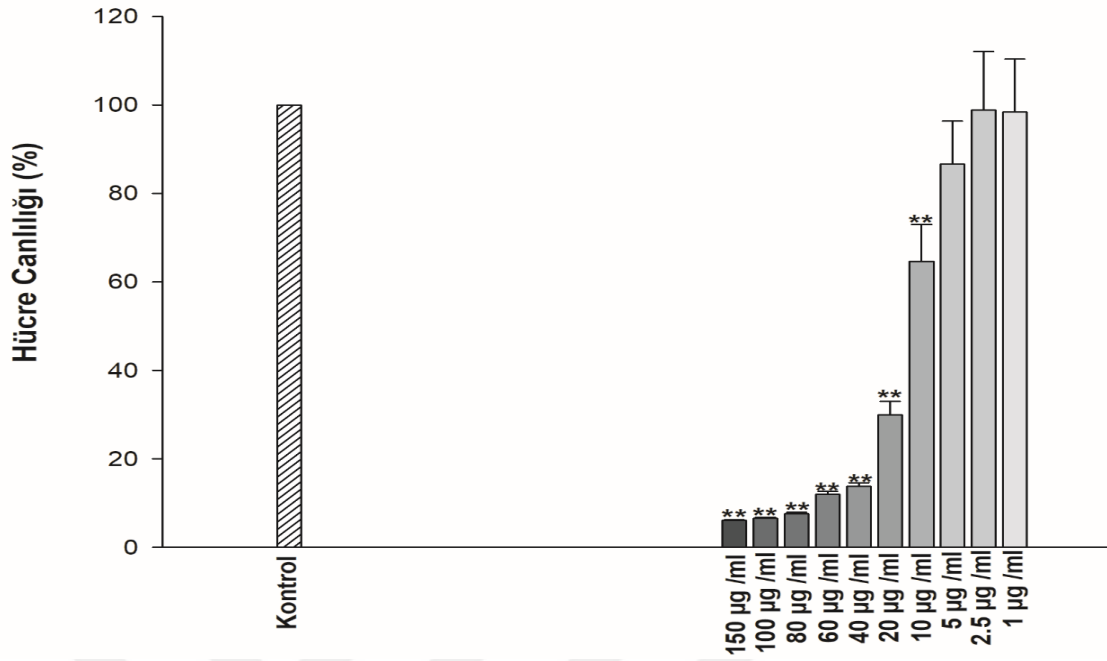
Amiodaron ve trastuzumabın MCF-7 hücreesindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarda denendi. Sonuçlar sigmaplot istatistik programında değerlendirilip çizilmiştir. Trastuzumab için hiçbir inkübasyon süresinde IC_{50} değerine ulaşılammıştır.

4.1.1. Amiodaronun tek başına MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

Amiodaron, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).

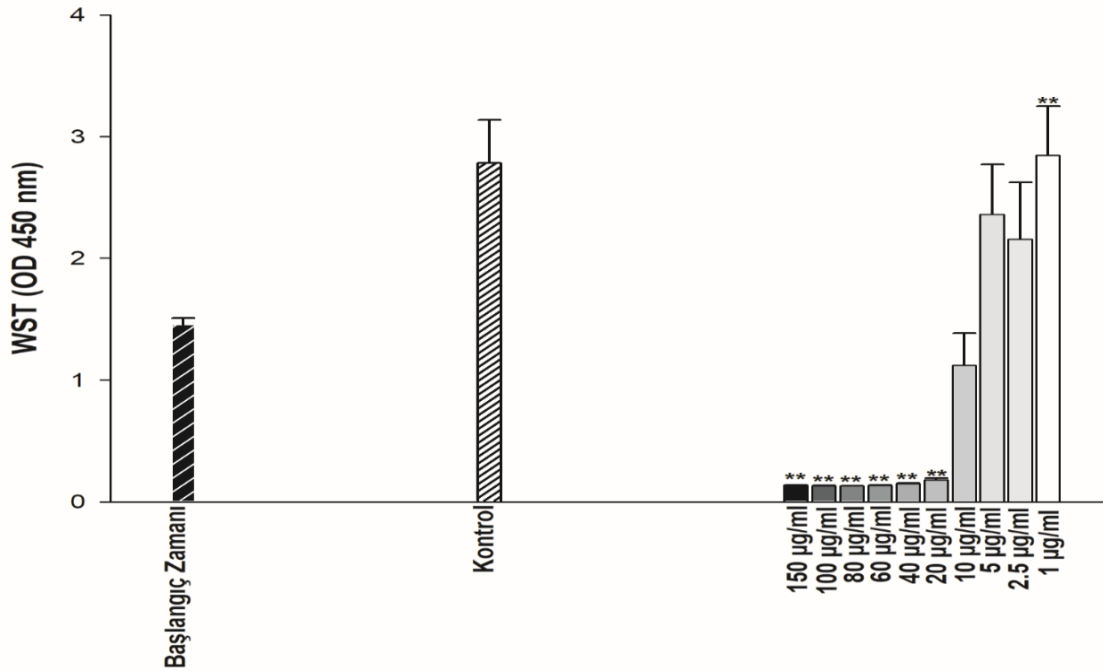


Şekil 4.1 Amiodaronun 150-1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, $p < 0.01$)

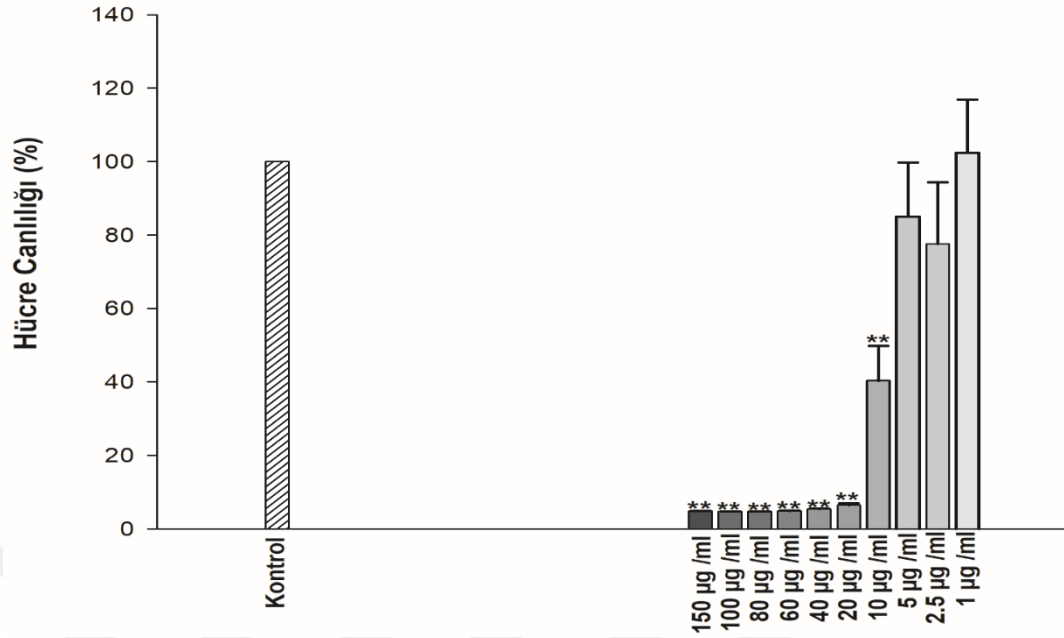


Şekil 4.2 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)

Amiodaron, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 µg /ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

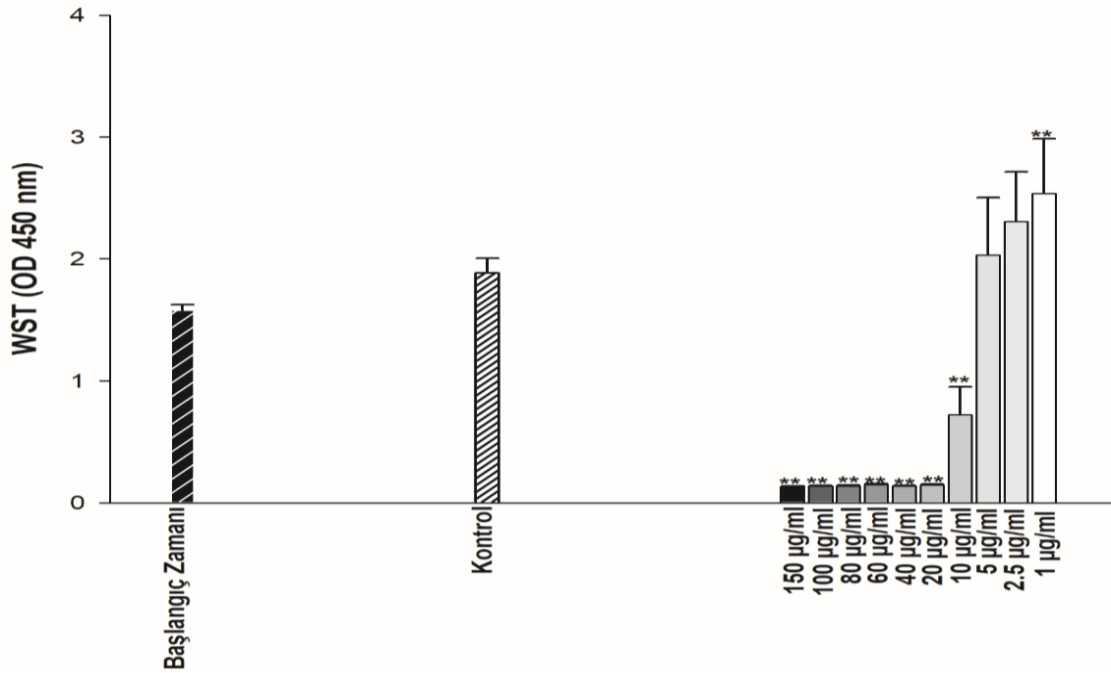


Şekil 4.3 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01)

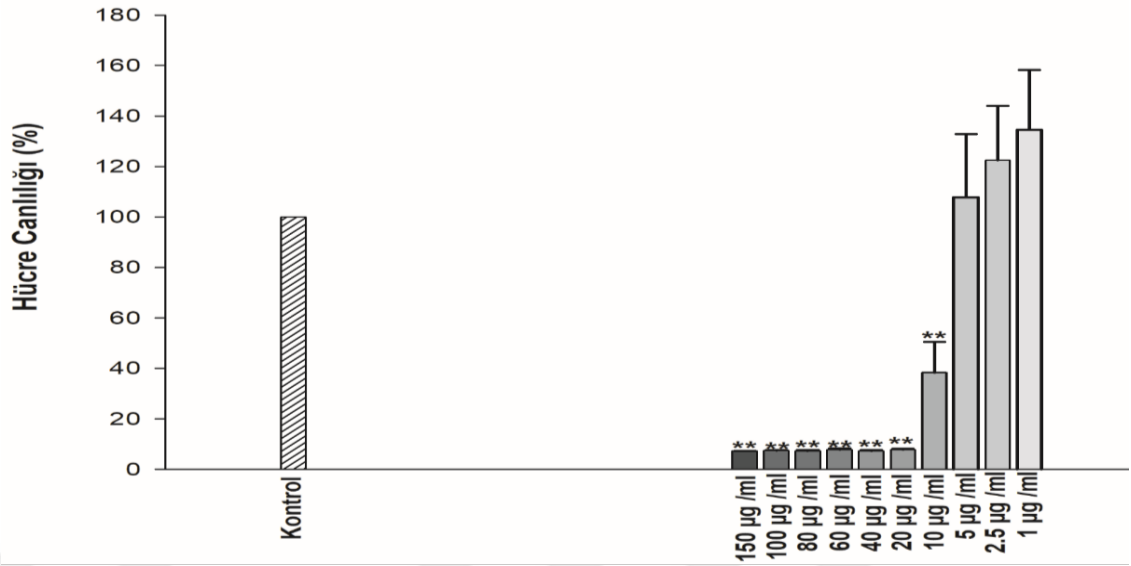


Şekil 4.4 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)

Amiodaron, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 µg /ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).



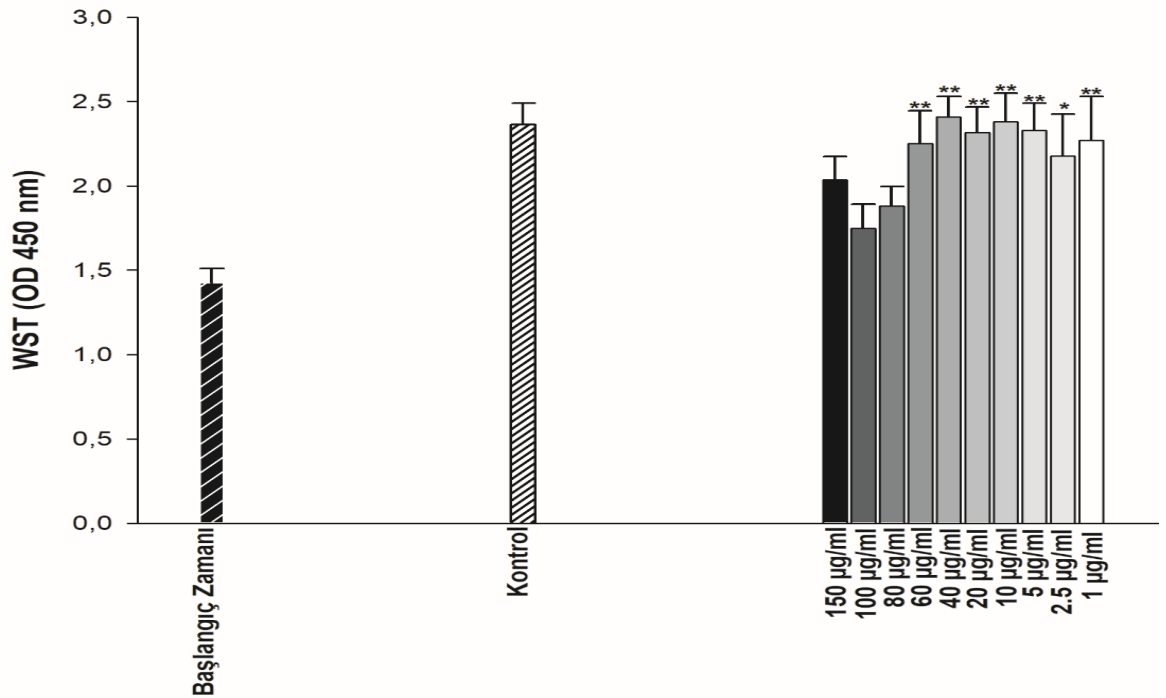
Şekil 4.5 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01)



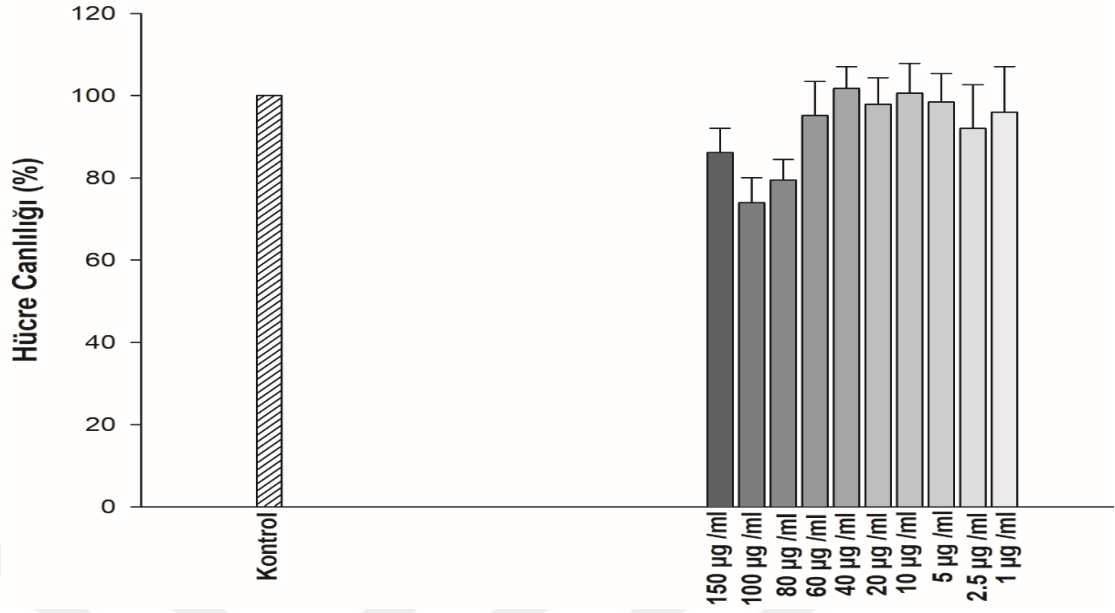
Şekil 4.6 Amiodaronun 150-1 µg/ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)

4.1.2. Trastuzumabın tek başına MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

Trastuzumab, 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki ve antiproliferatif göstermemiştir (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8).

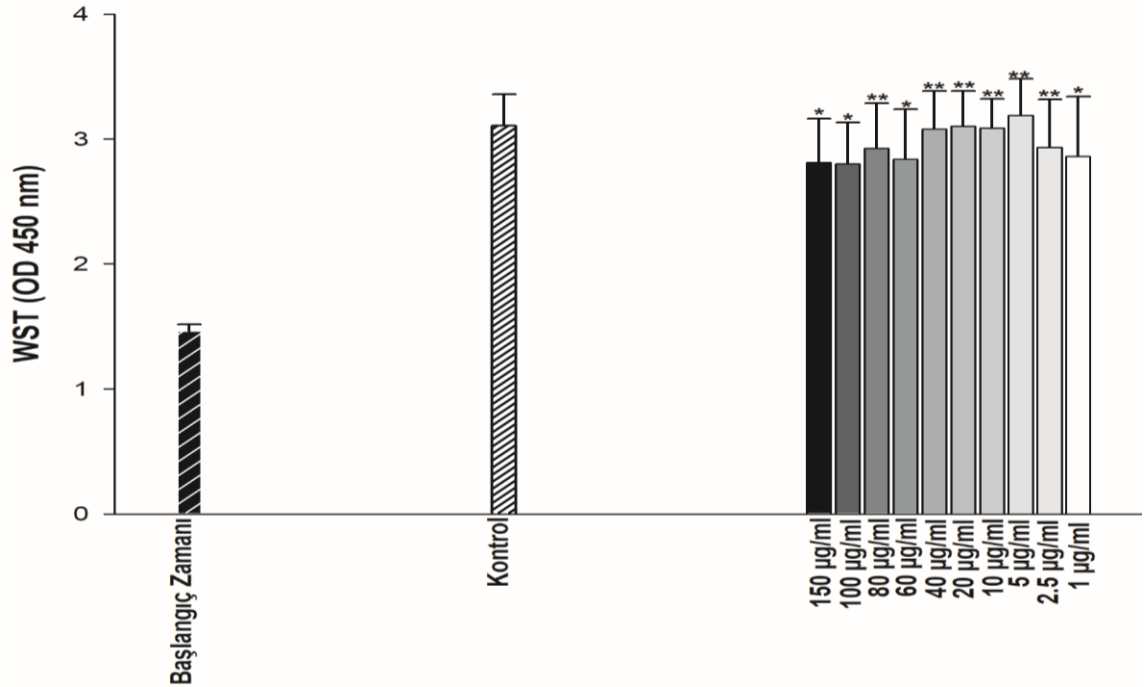


Şekil 4.7 Trastuzumabın 150-1 µg/ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01; *, p<0.05).

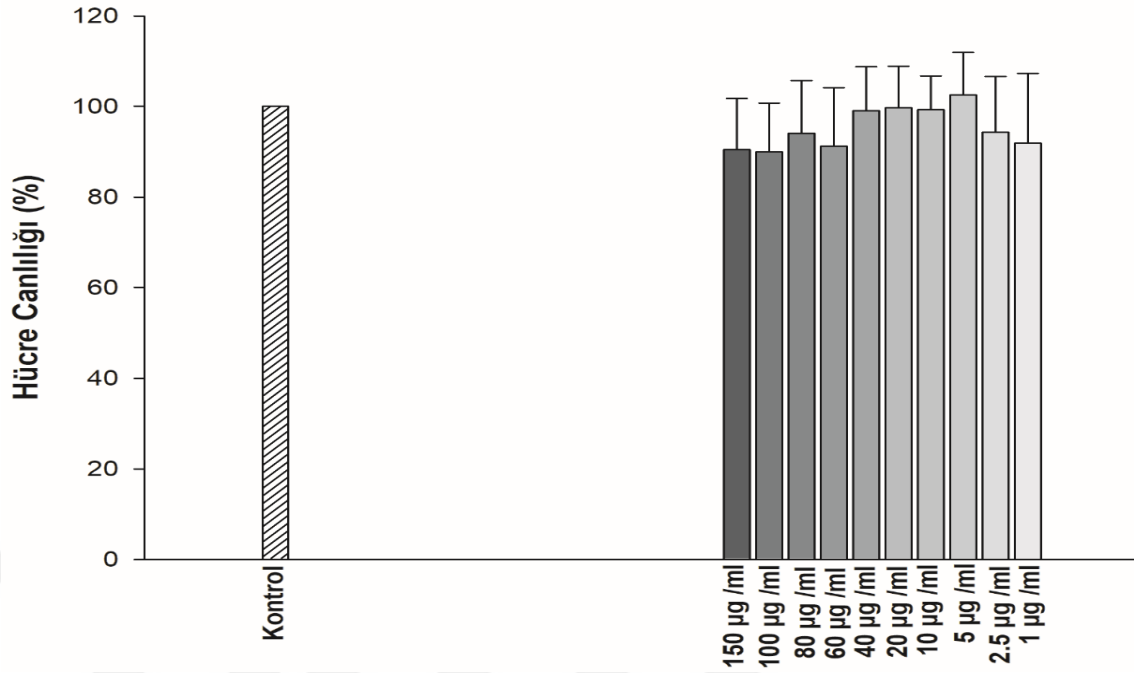


Şekil 4.8 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi

Trastuzumab, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki ve antiproliferatif göstermemiştir (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10).

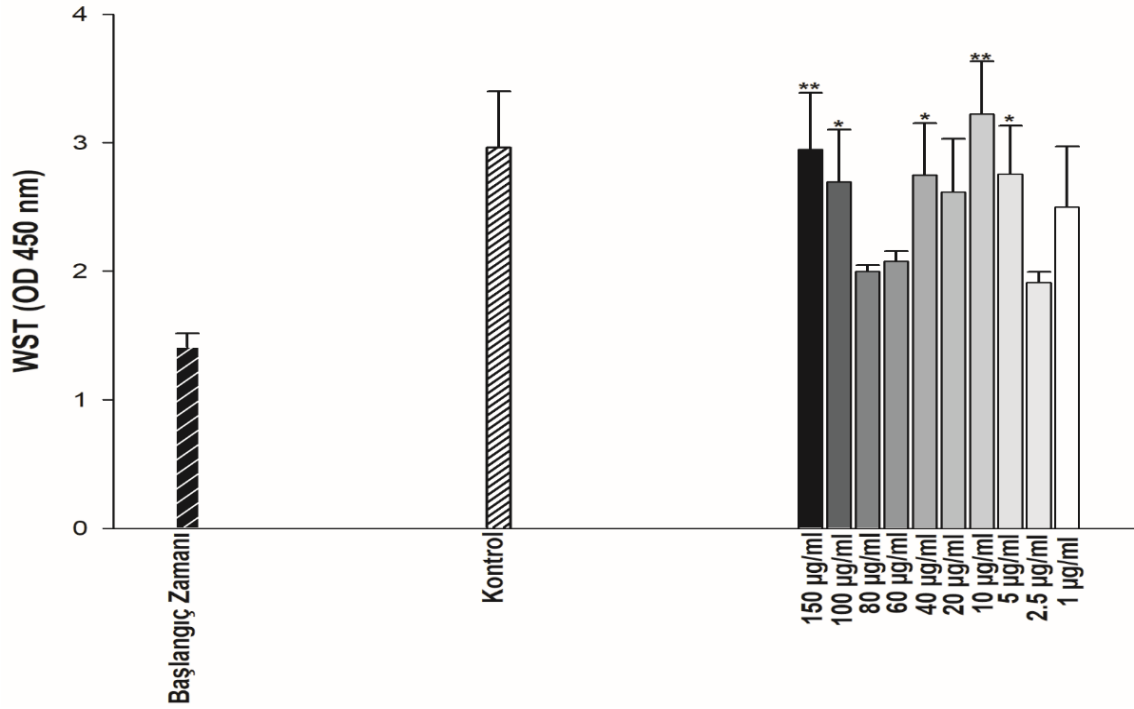


Şekil 4.9 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01; *, p<0.05).

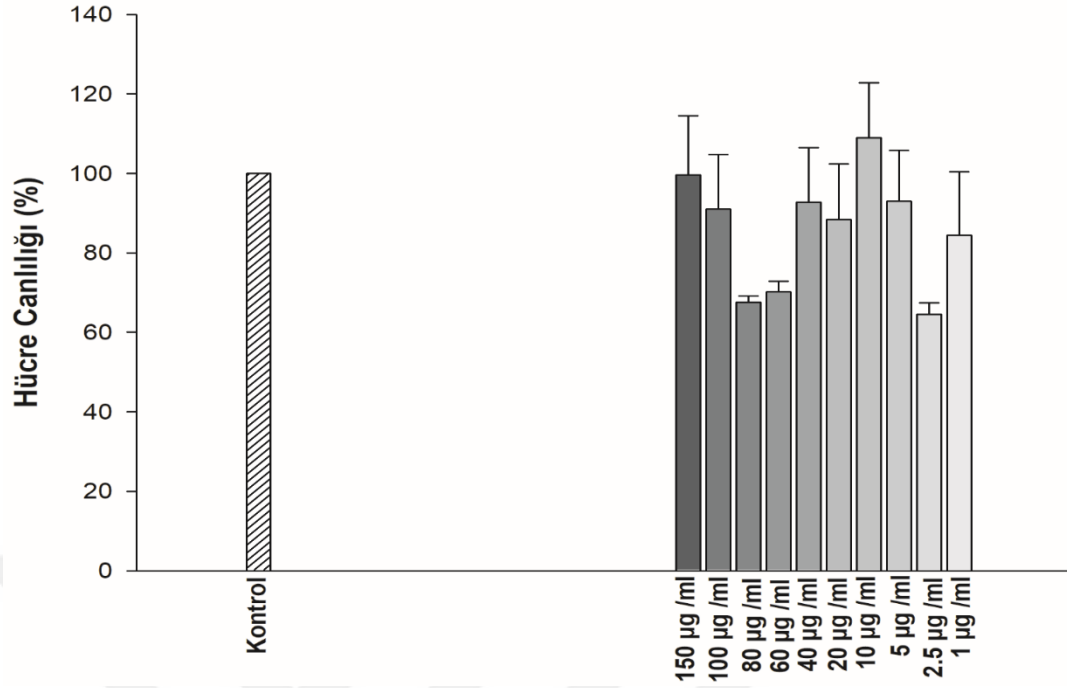


Şekil 4.10 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi

Trastuzumab, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki ve antiproliferatif göstermemiştir (Şekil 4.11 ve Şekil 4.12).



Şekil 4.11 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01; *, p<0.05).

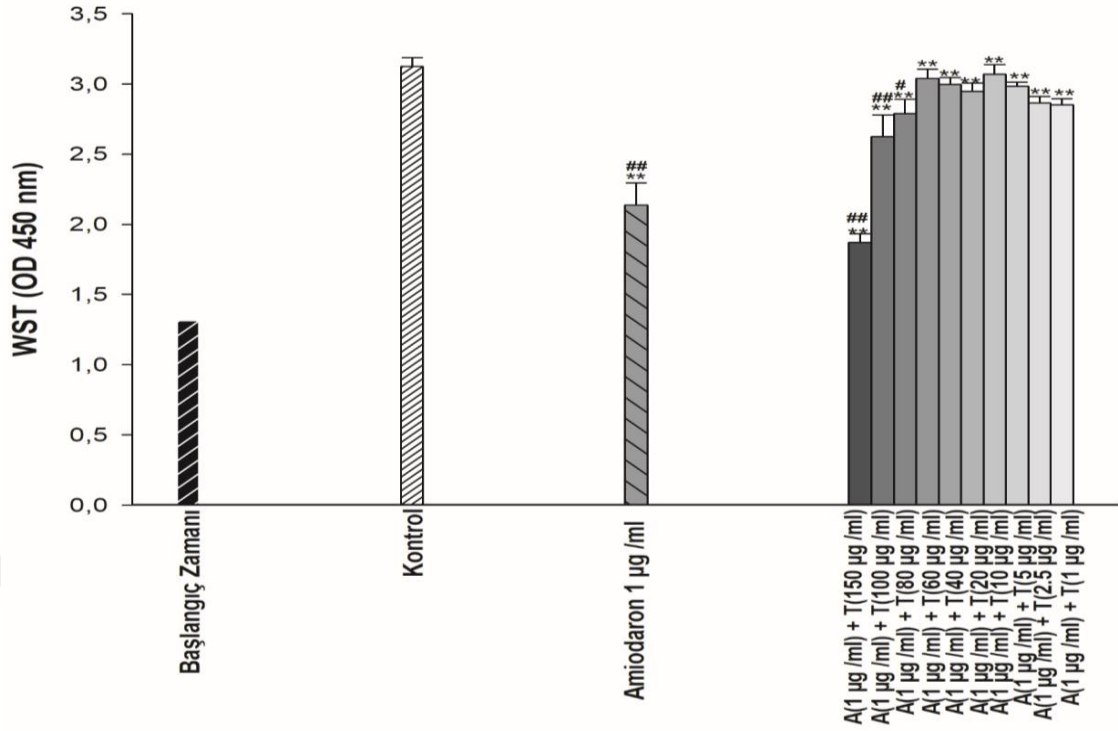


Şekil 4.12 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattında hücre canlılığına etkisi

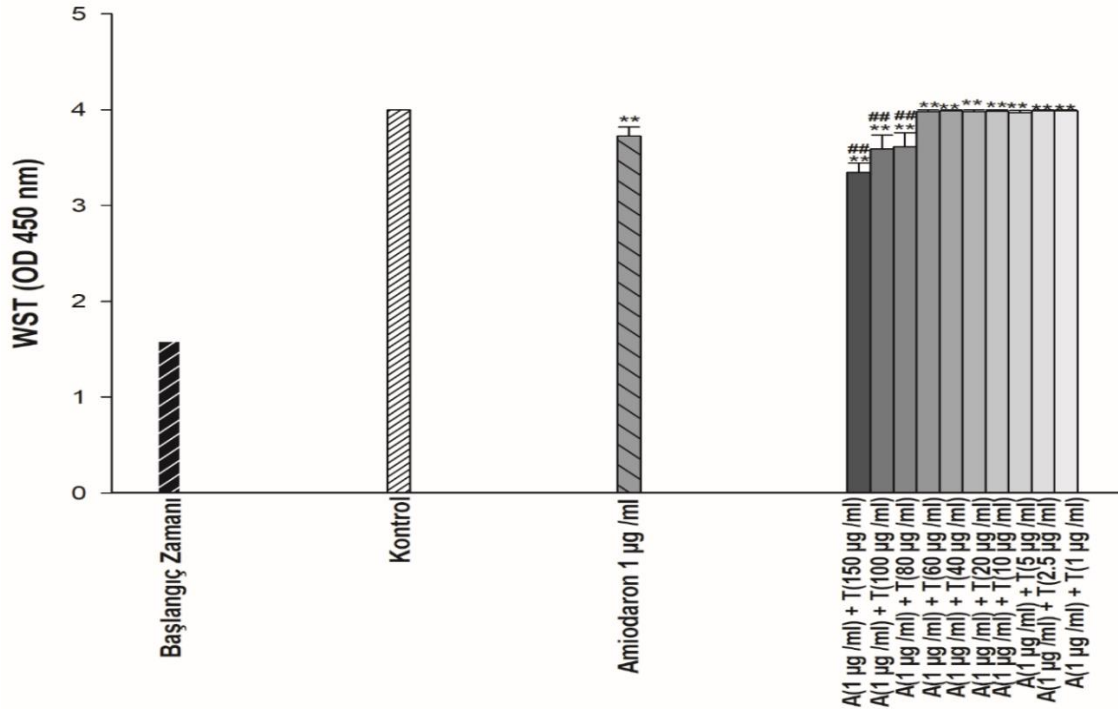
4.1.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

Kombinasyon çalışmasında Trastuzumab için; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml, amiodaron için ise 5, 2.5, 1 µg /ml dozlar belirlendi. Kombinasyonun MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde incelendi. İstatistik programından elde edilen veriler kullanılarak grafikleri çizildi.

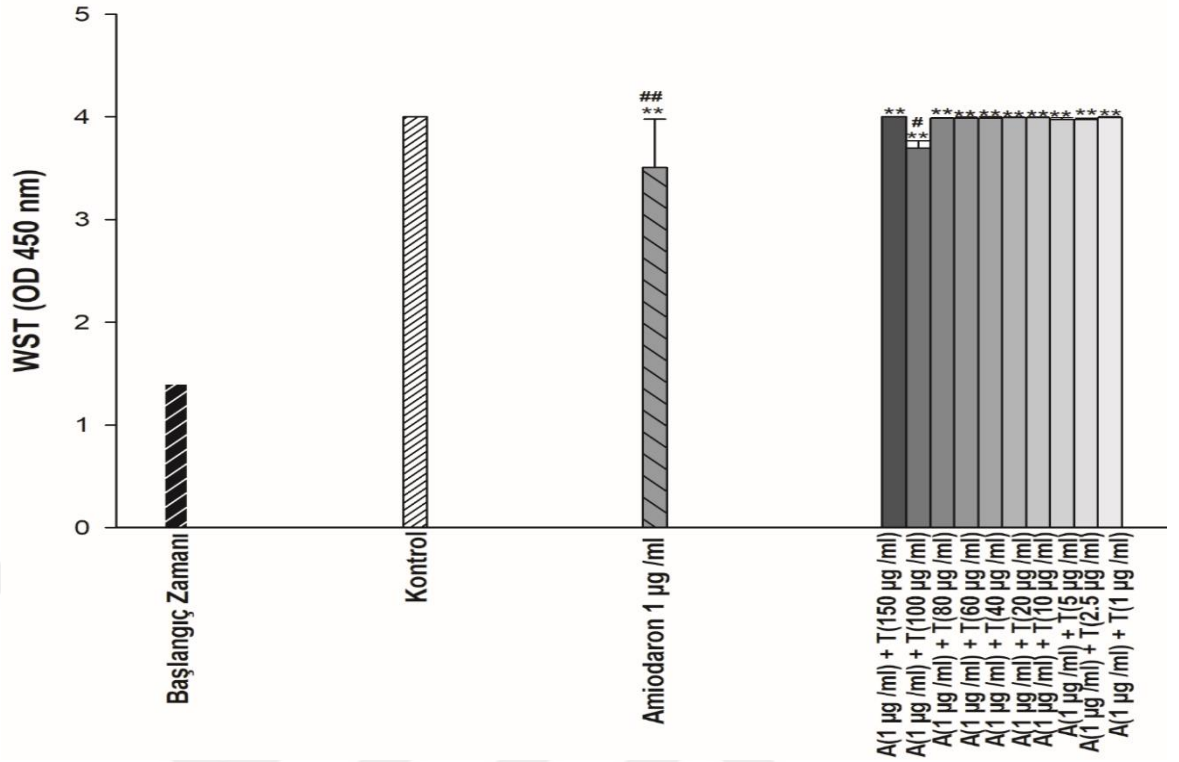
MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 1 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın sadece 100 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.13, 4.14 ve 4.15).



Şekil 4.13. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$)

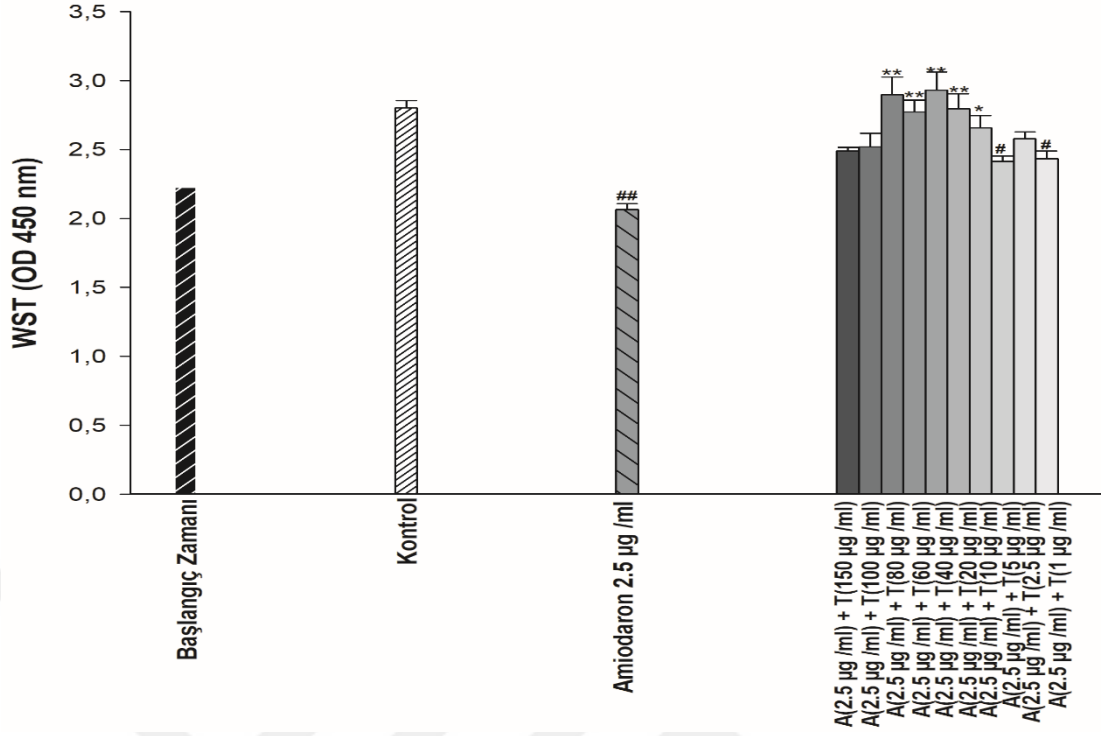


Şekil 4.14. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$; *, $p<0.05$)

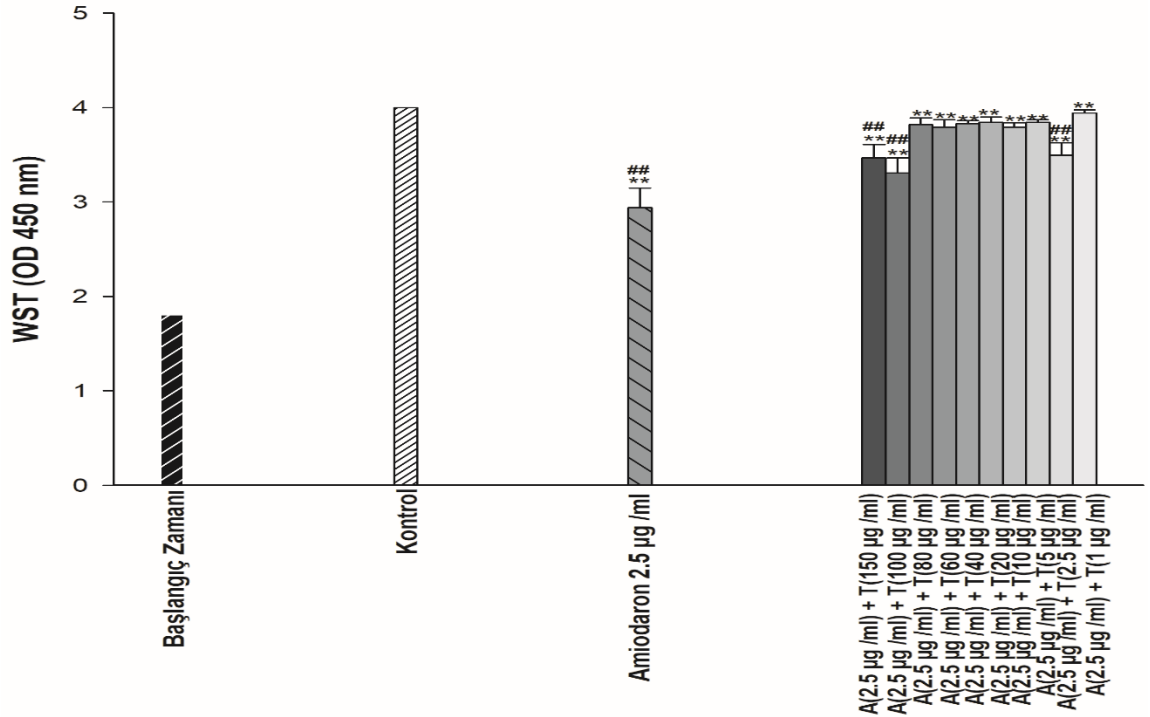


Şekil 4.15. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (#, $p<0.05$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$; *, $p<0.05$)

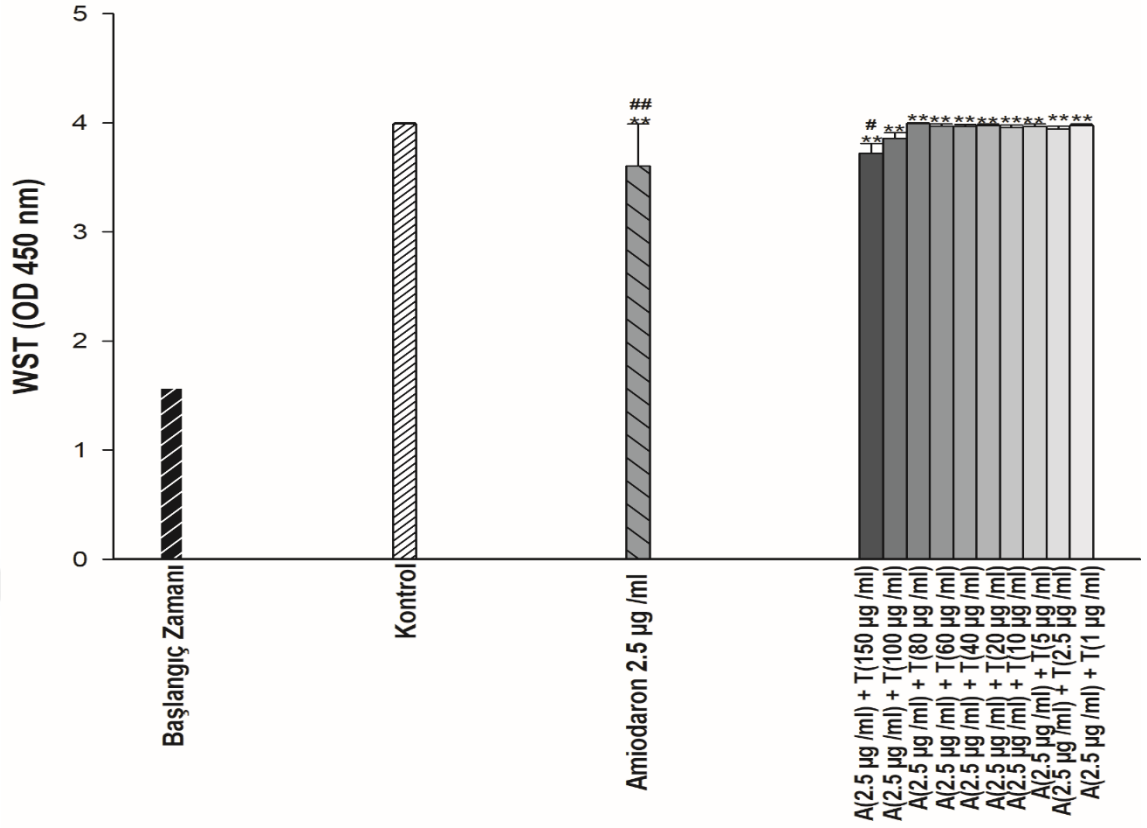
MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 2.5 µg/ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 5 ve 1 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 2.5 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın sadece 150 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.16, 4.17 ve 4.18).



Şekil 4.16. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$; *, $p<0.05$)

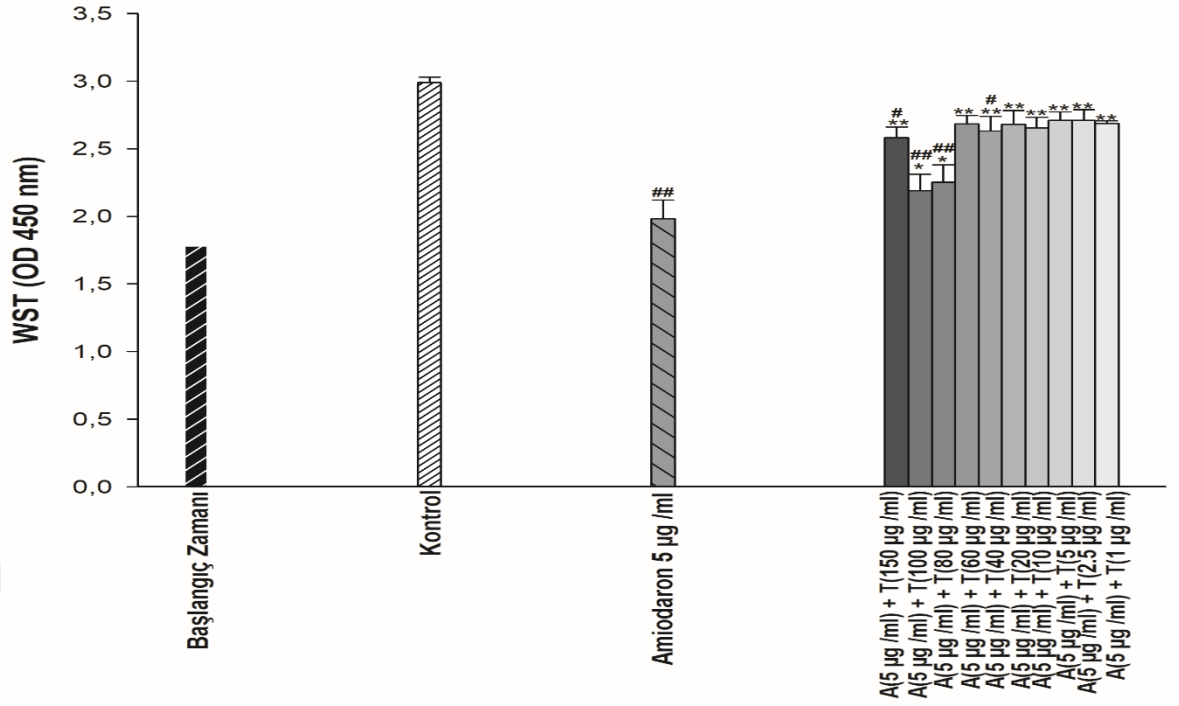


Şekil 4.17. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

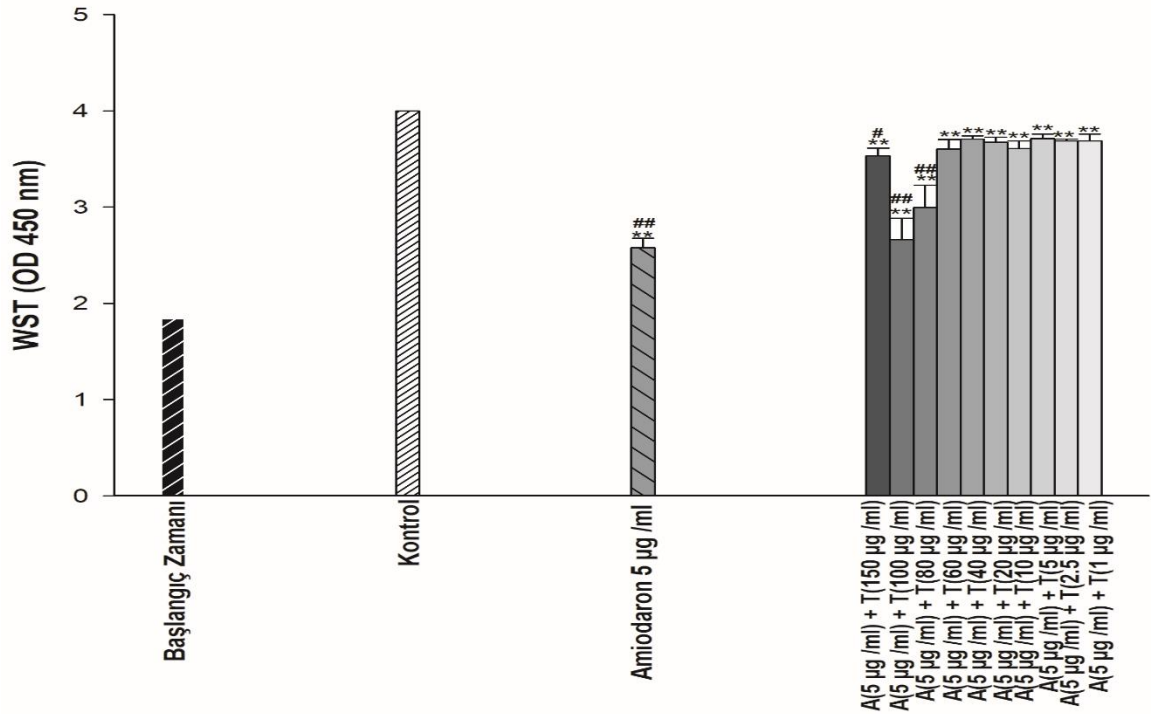


Şekil 4.18. Amiodaron 2.5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

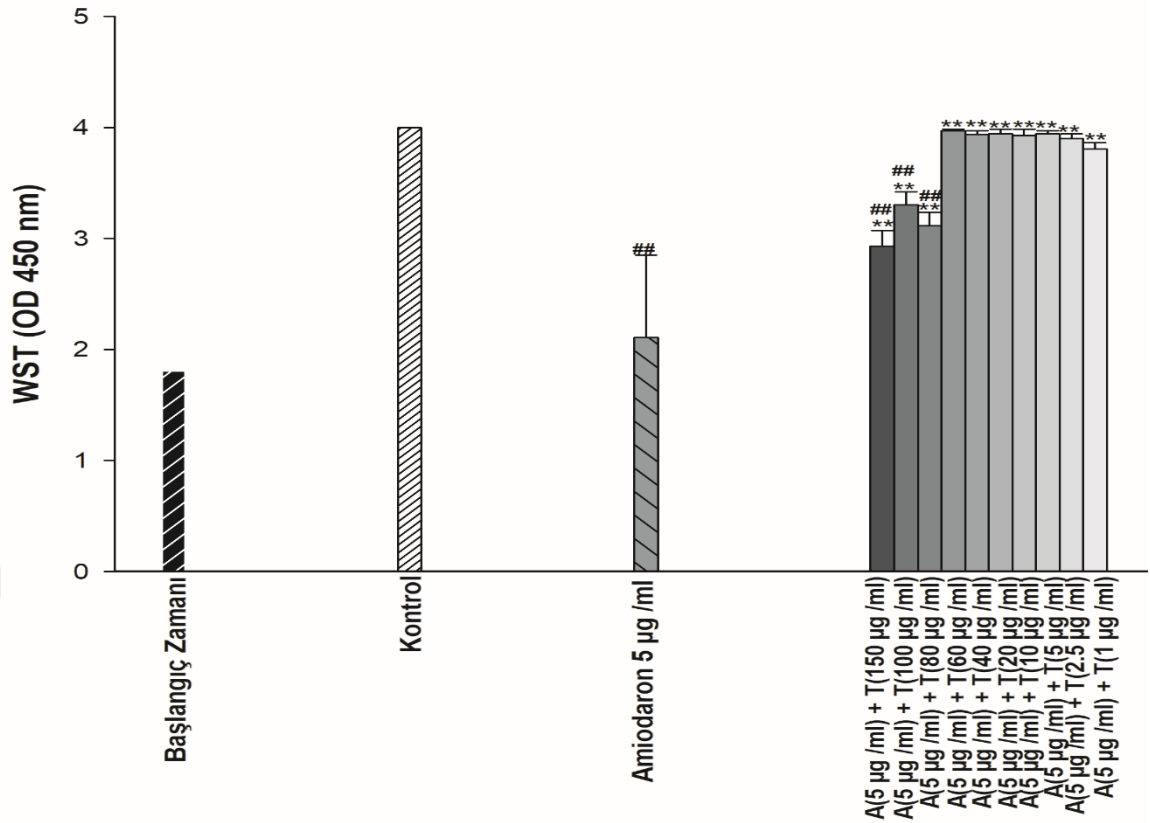
MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 5 µg/ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 ve 40 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.19, 4.20 ve 4.21).



Şekil 4.19. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki sitotoksosite (**, $p<0.01$; *, $p<0.05$) ve hücre canlılığına etkisi (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$)



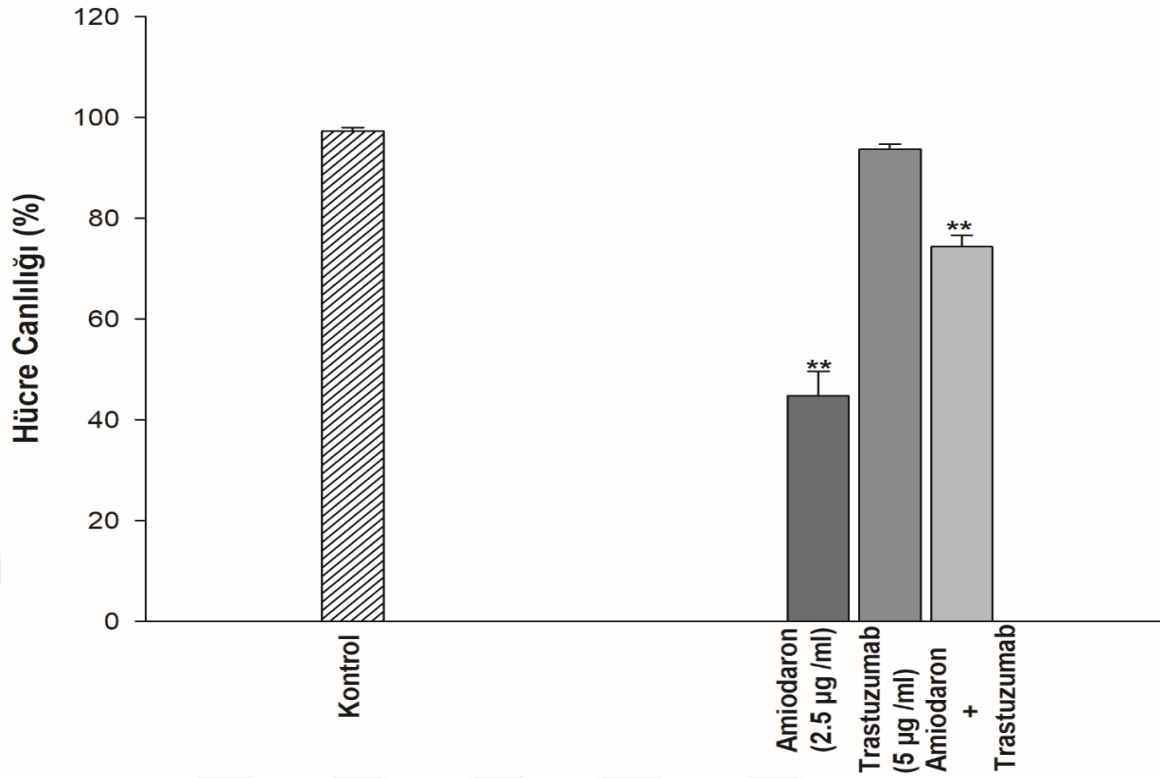
Şekil 4.20. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$)



Şekil 4.21. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p < 0.01$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p < 0.01$)

4.1.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

Trastuzumabın uyguladığımız dozları ve inkübasyon sürelerinde IC50 değerleri olmadığı için kombinasyon uygulamasının etkili olan dozlarında ve inkübasyon süresindeki (24 saat) WST-8 testi sonuçlarını desteklemek için tripan mavisi testi kullanılmıştır. Her sayım kendi içinde tekrarlanmış olup excel programında yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır. Sonrasında instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilip grafiklendirilmiştir (Şekil 4.22.).



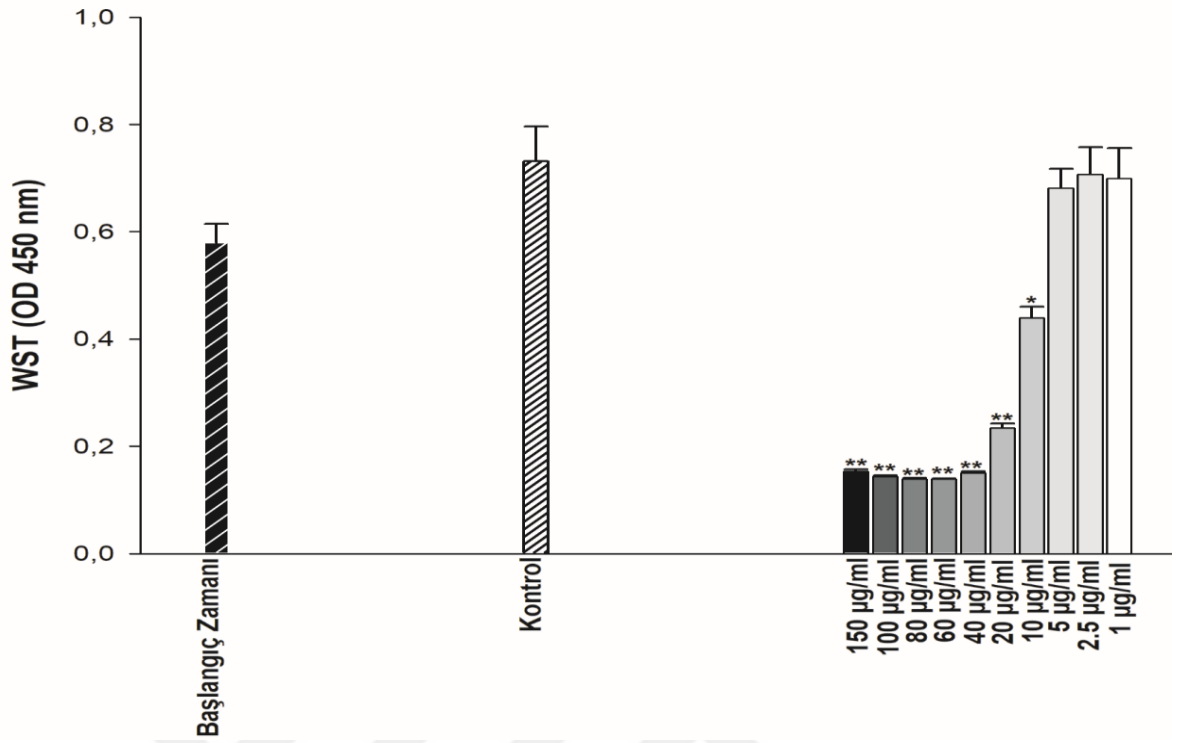
Şekil 4.22. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-7 hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01).

4.2. MDA-MB-231 Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri

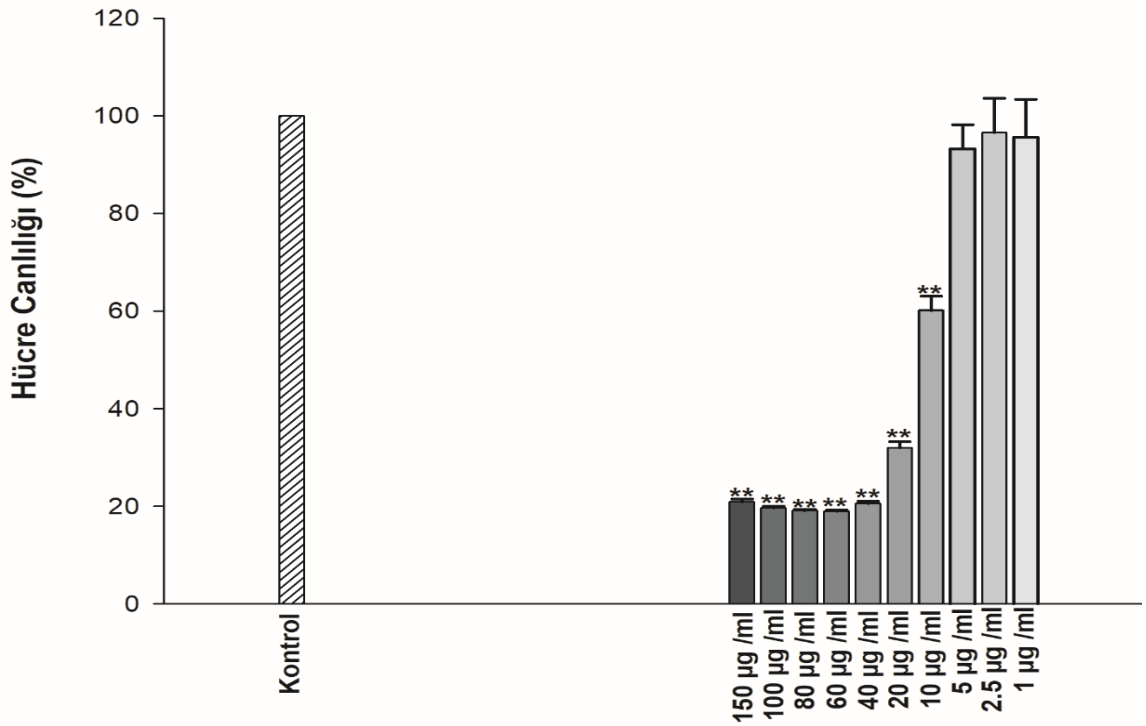
Amiodaron ve trastuzumabın MDA-MB-231 hücreesindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml dozlarda denendi. Sonuçlar sigmaplot istatistik programında değerlendirilip çizilmiştir. Trastuzumab için hiçbir inkübasyon süresinde IC50 değeri saptanmamıştır.

4.2.1. Amiodaronun tek başına MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

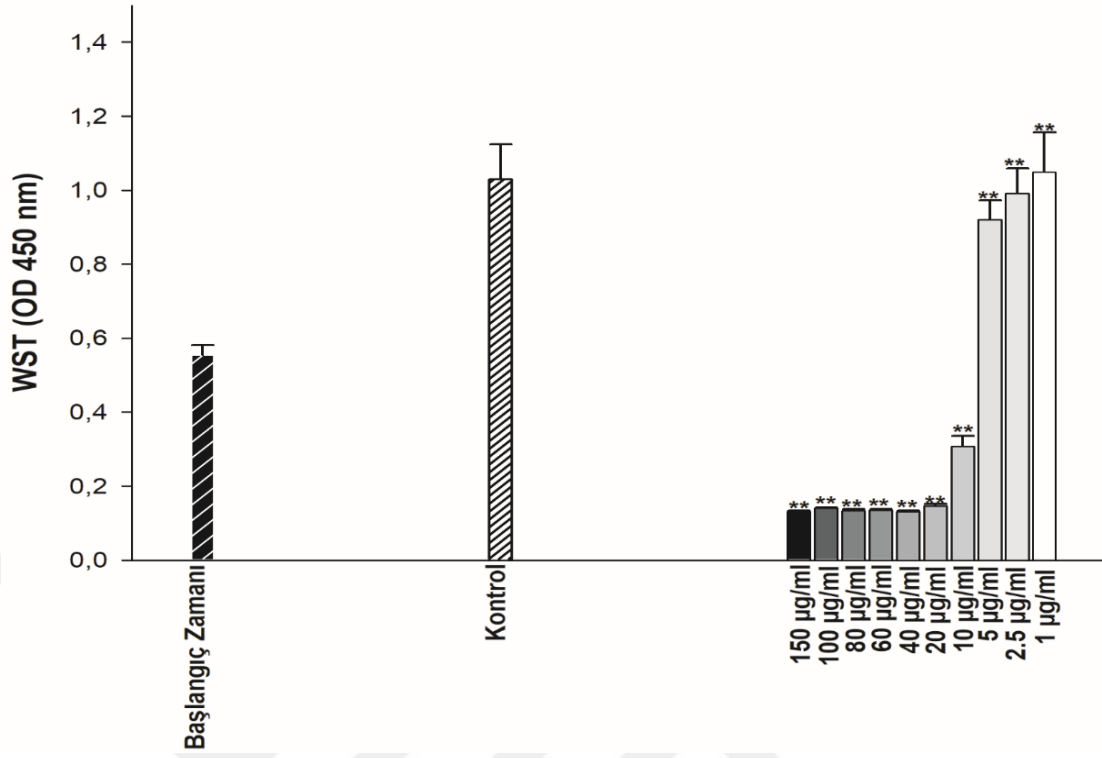
Amiodaron, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDA-MB-231 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 24, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-10 µg /ml doz aralığında, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 150-5 µg /ml doz aralığında antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.23, 4.24, 4.25, 4.26, 4.27 ve 4.28).



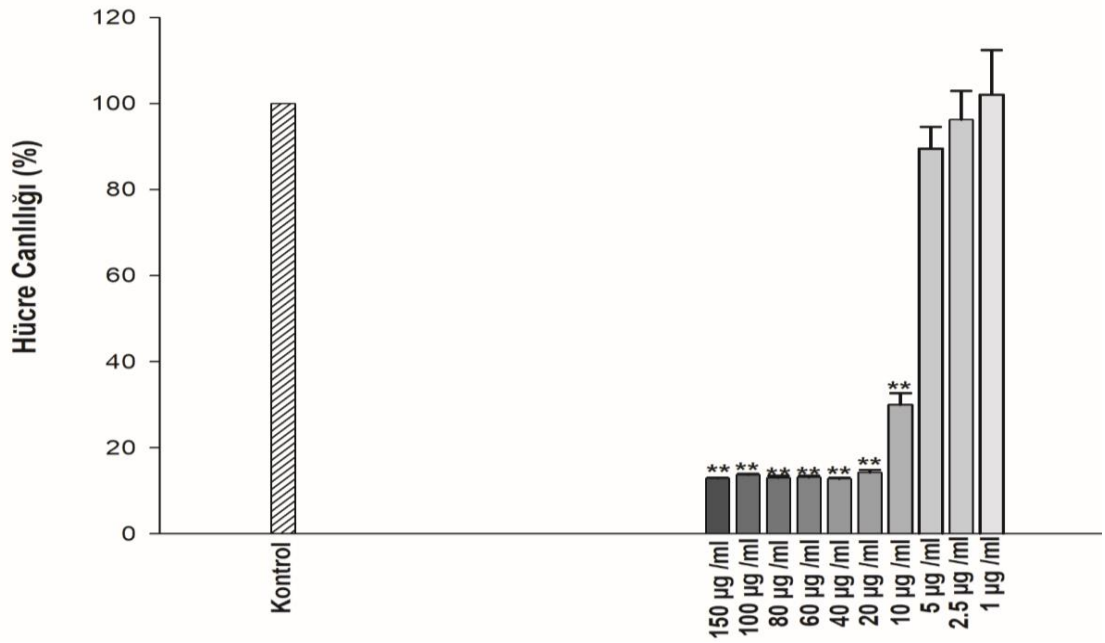
Şekil 4.23 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01; *, p<0.05).



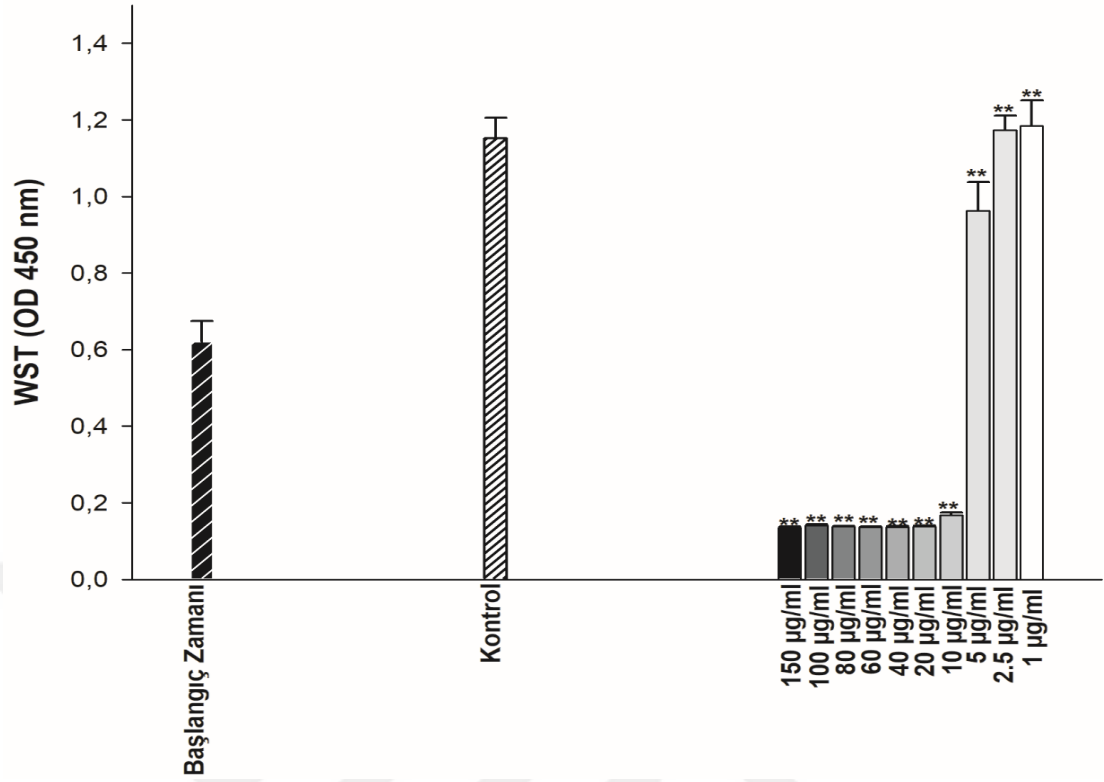
Şekil 4.24 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)



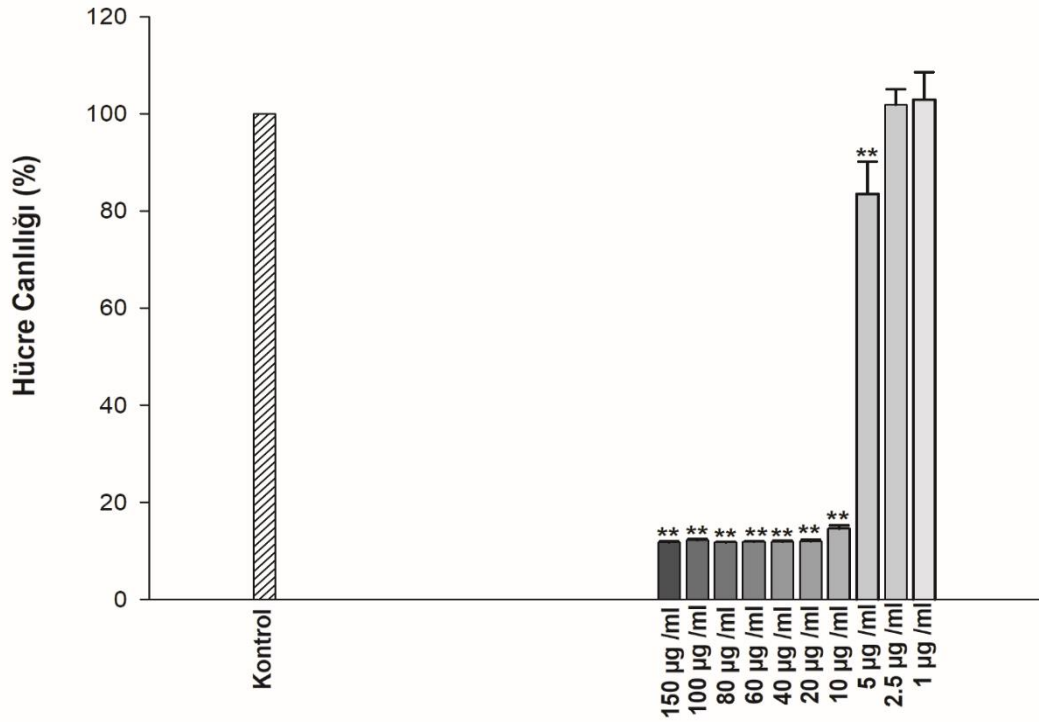
Şekil 4.25 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01).



Şekil 4.26 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)



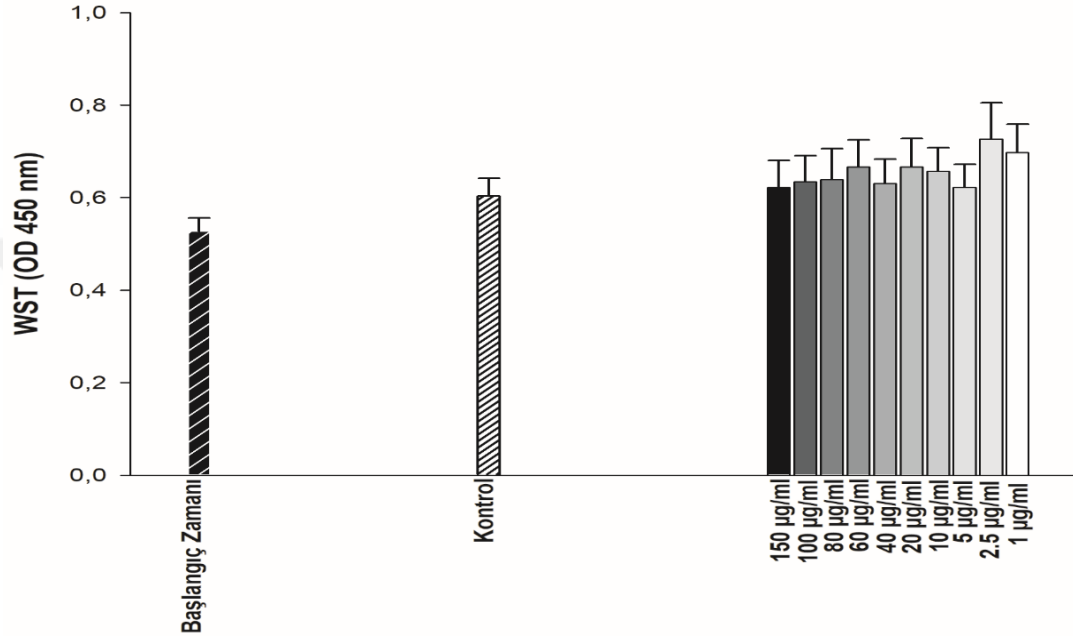
Şekil 4.27 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksikite etkisi (**, p<0.01).



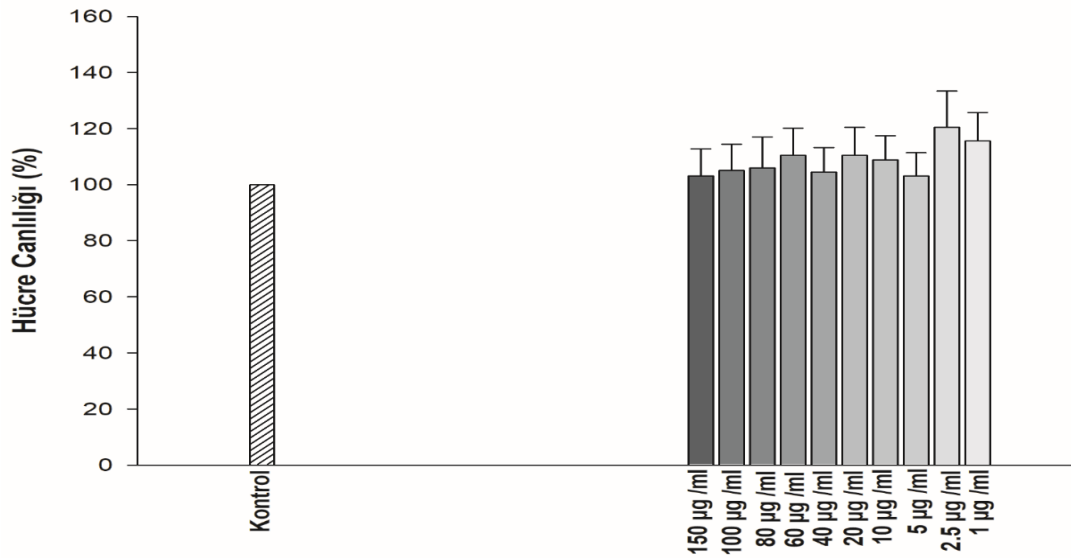
Şekil 4.28 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)

4.2.2. Trastuzumabın tek başına MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

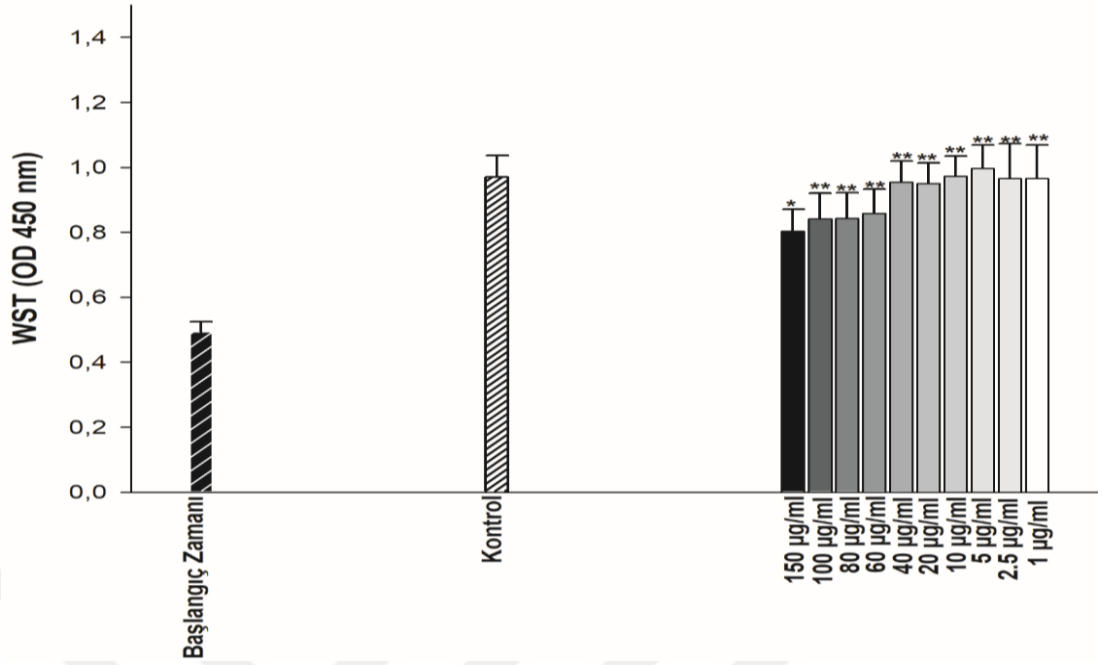
Trastuzumab, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDA-MB-231 hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir, 24, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda antiproliferatif etki göstermemiş olup 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-100 µg /ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.29, 4.30, 4.31, 4.32, 4.33 ve 4.34).



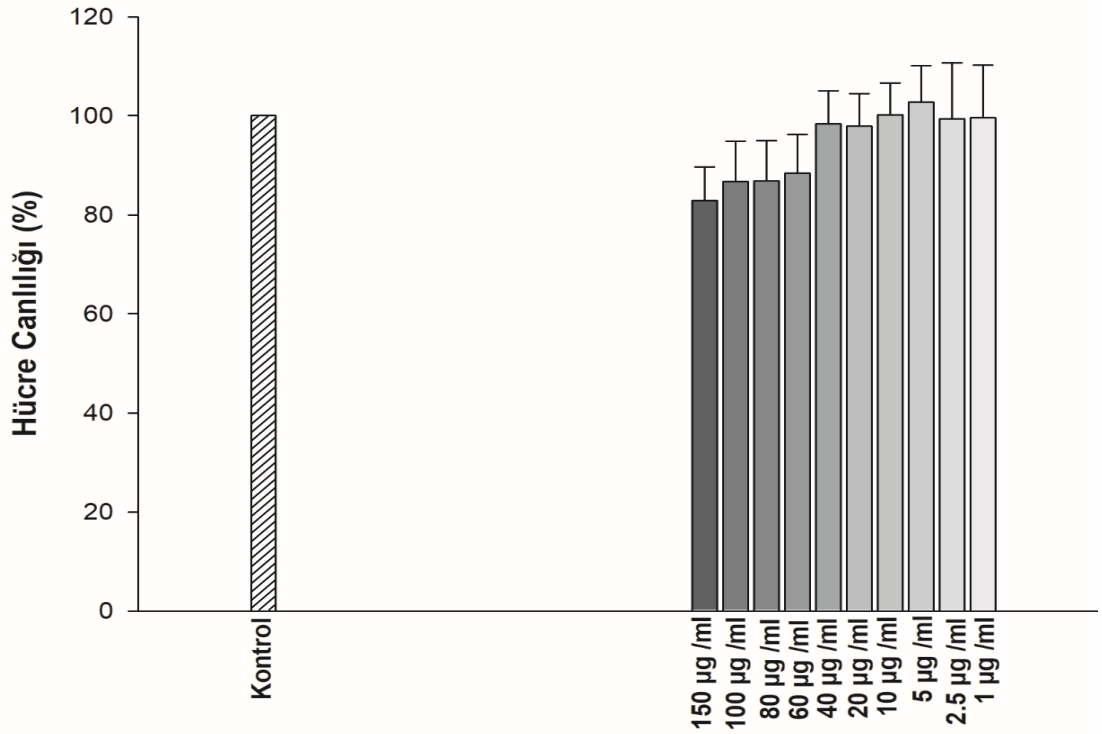
Şekil 4.29 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksikite etkisi.



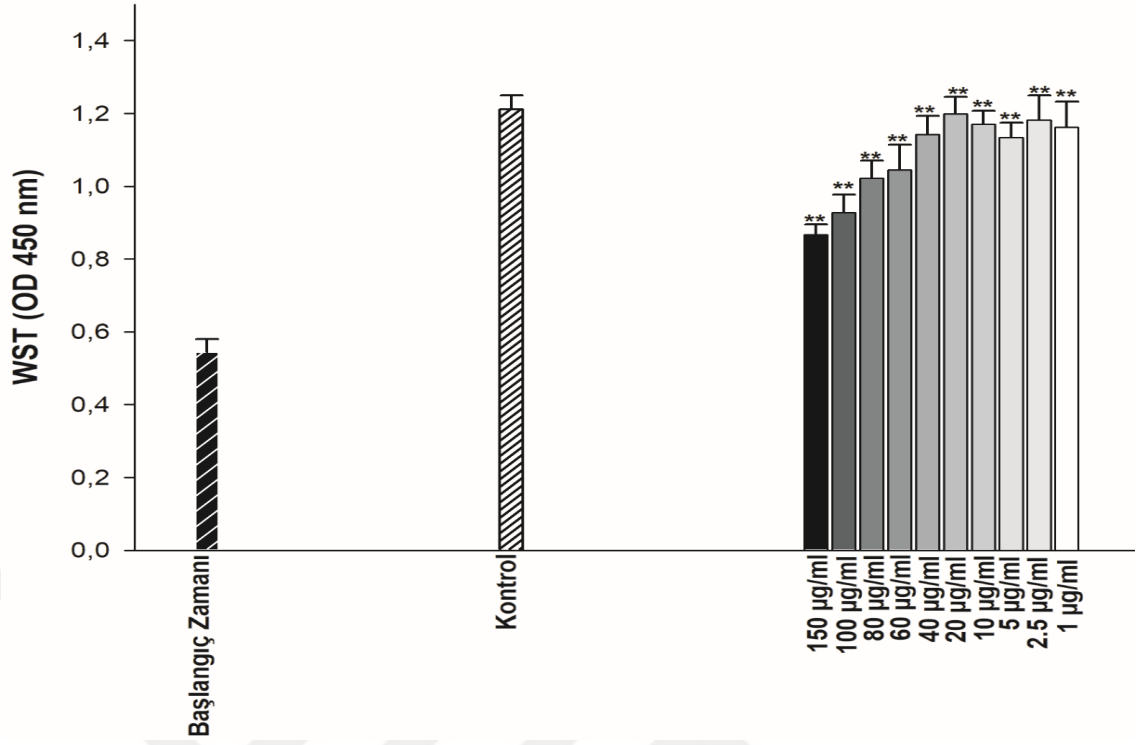
Şekil 4.30 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi



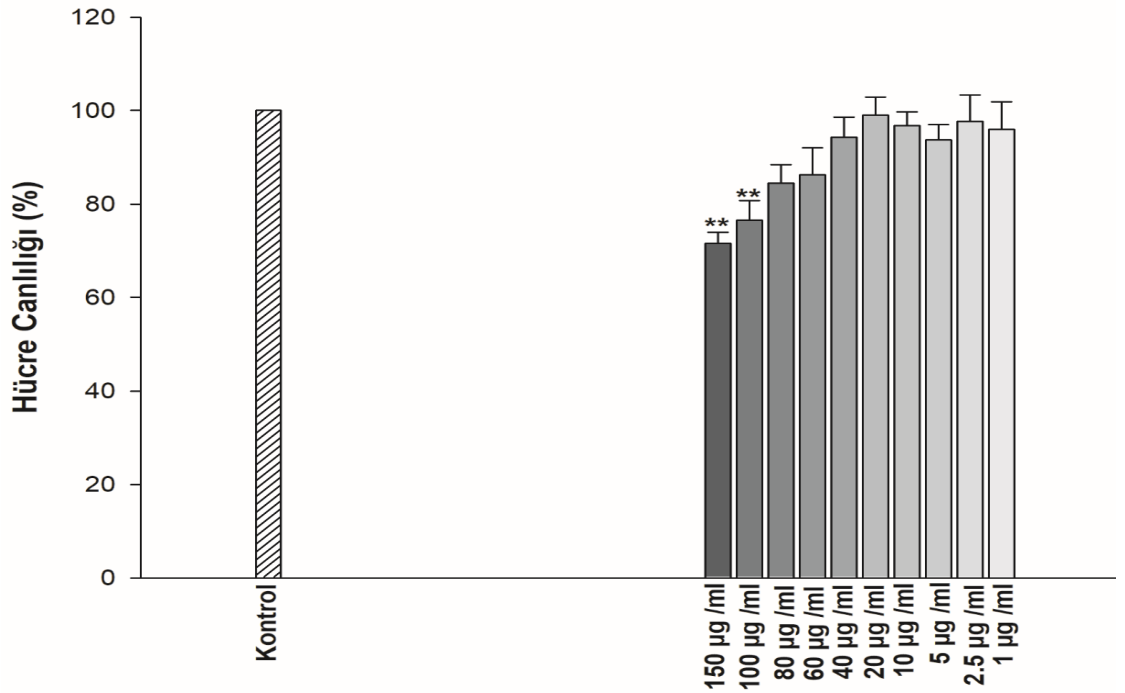
Şekil 4.31 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, p<0.0; *, p<0.05).



Şekil 4.32 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi



Şekil 4.33 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, p<0.01).

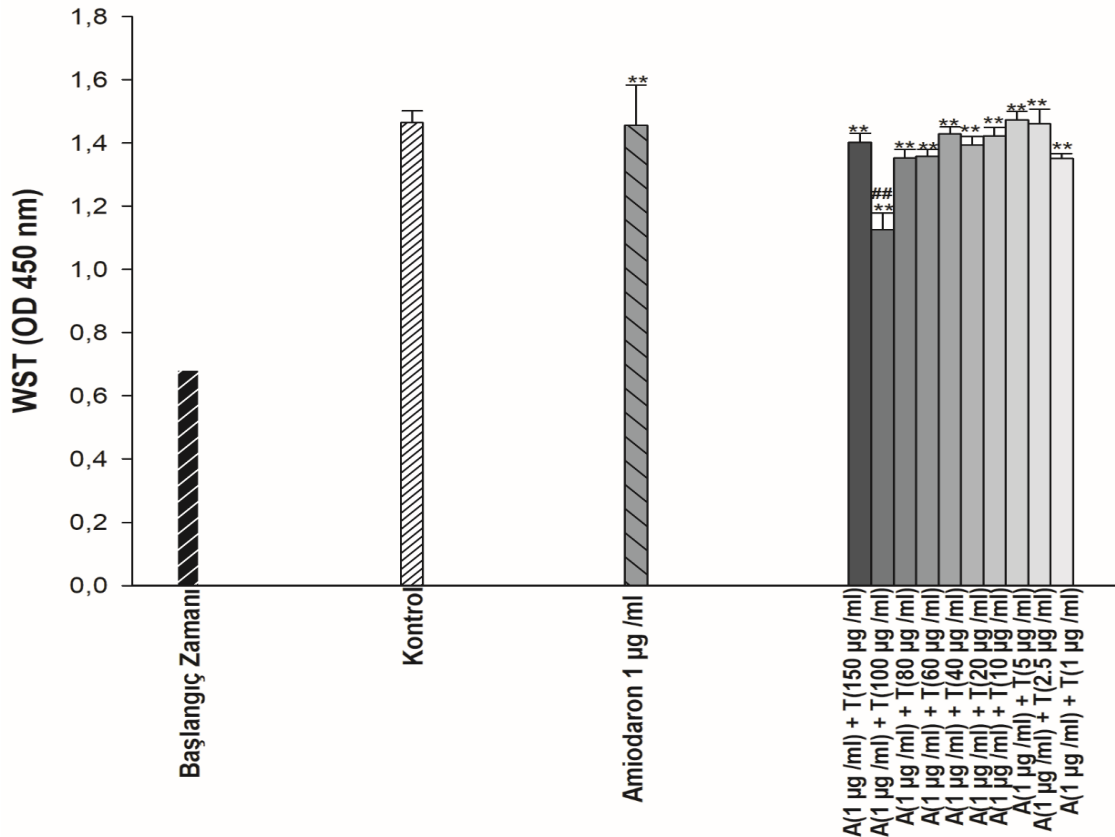


Şekil 4.34 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)

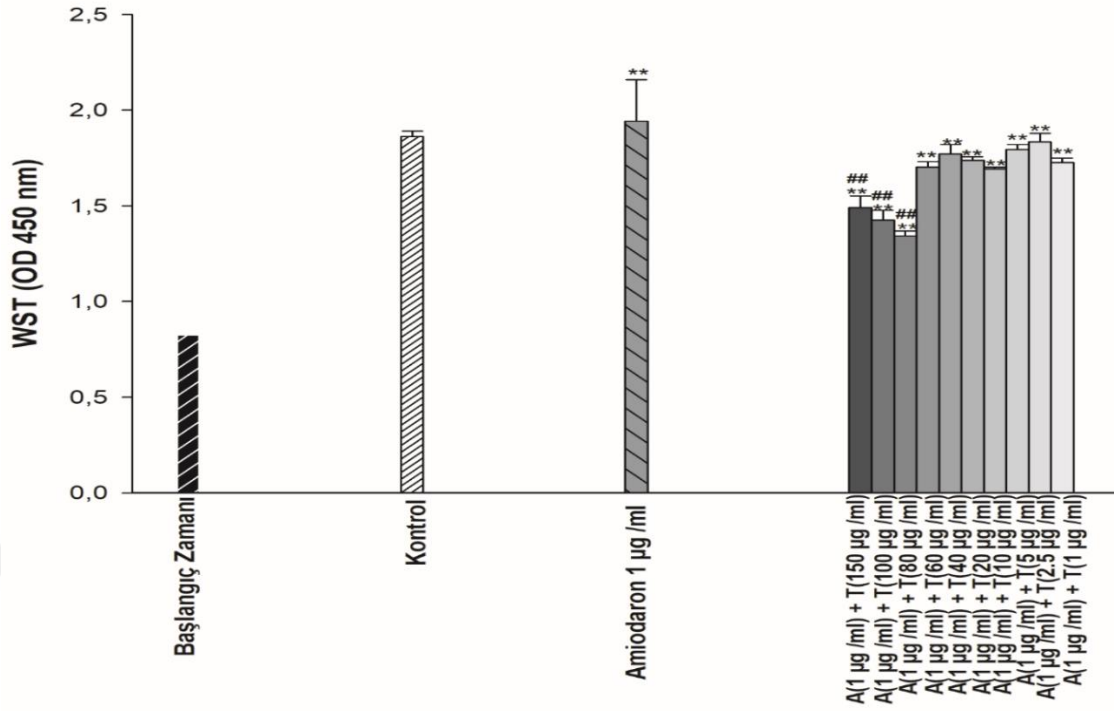
4.2.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

Kombinasyon çalışmasında Trastuzumab için; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml, amiodaron için ise 5, 2.5, 1 µg /ml dozlar belirlendi. Kombinasyonun MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde incelendi. İstatistik programından elde edilen veriler kullanılarak grafikleri çizildi.

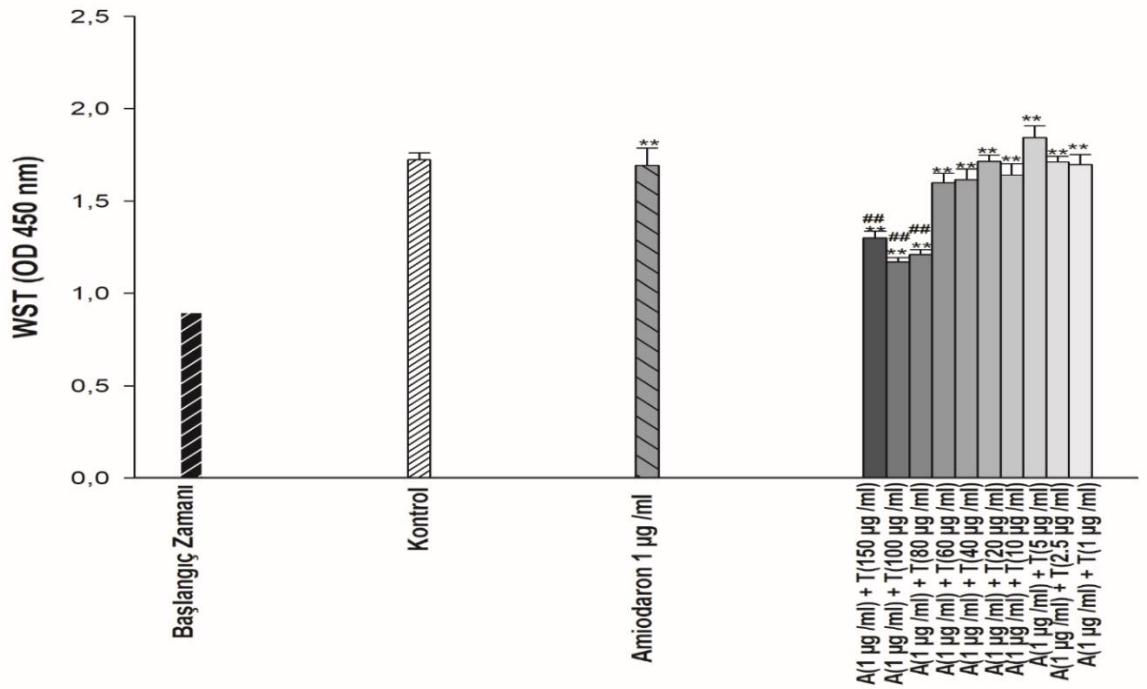
MDA-MB-231 hücrelerinde amiodaronun 1 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 100 µg /ml dozuyula olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.35, 4.36 ve 4.37).



Şekil 4.35. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, p<0.01) ve sitotoksisiteye etkisi (**, p<0.01)

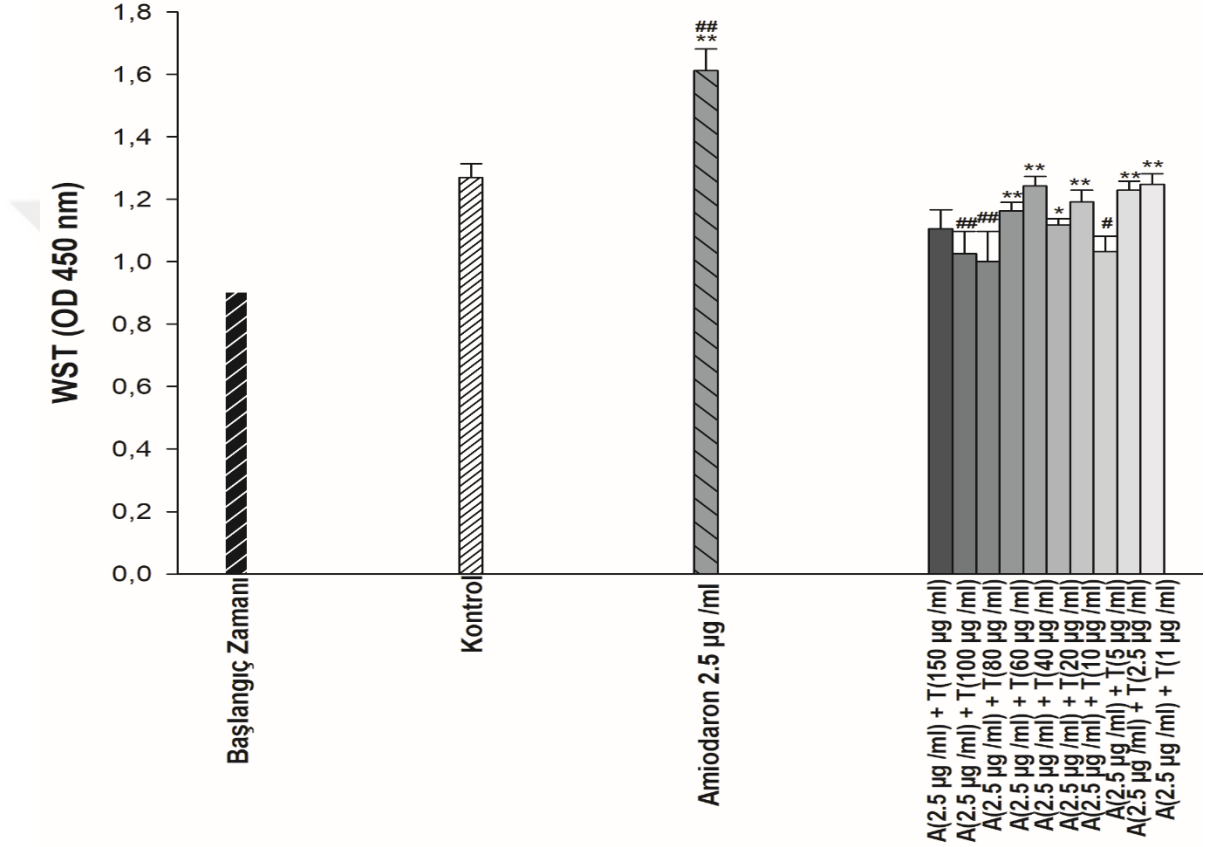


Şekil 4.36. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p < 0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p < 0.01$)

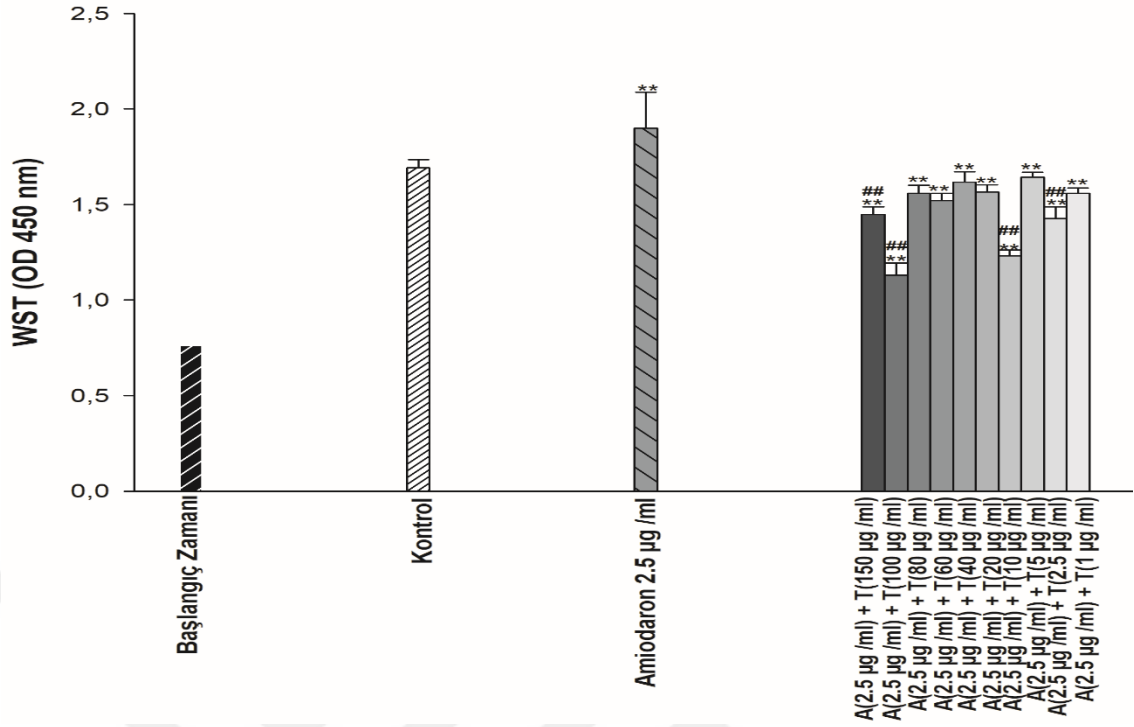


Şekil 4.37. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p < 0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p < 0.01$)

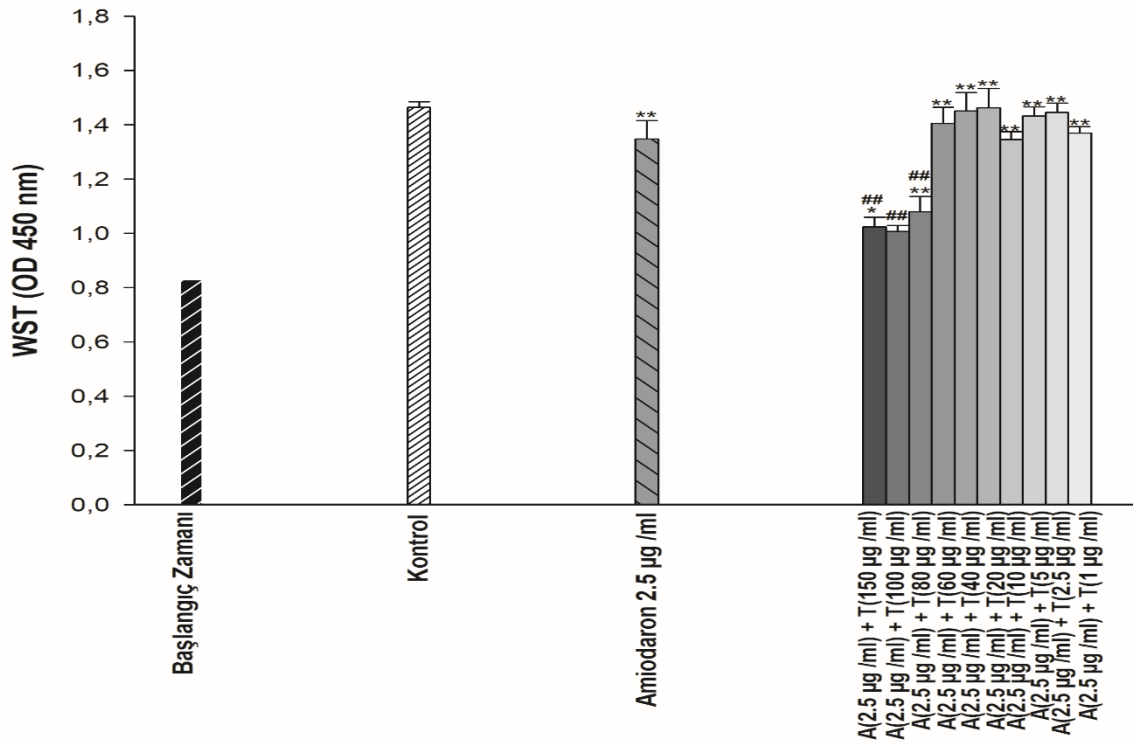
MDA-MB-231 hücrelerinde amiodaronun 2.5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 100, 80 ve 5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 10 ve 2.5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.38, 4.39 ve 4.40).



Şekil 4.38. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, p<0.01; #, p<0.05) ve sitotoksisiteye etkisi (**, p<0.01; *, p<0.05)

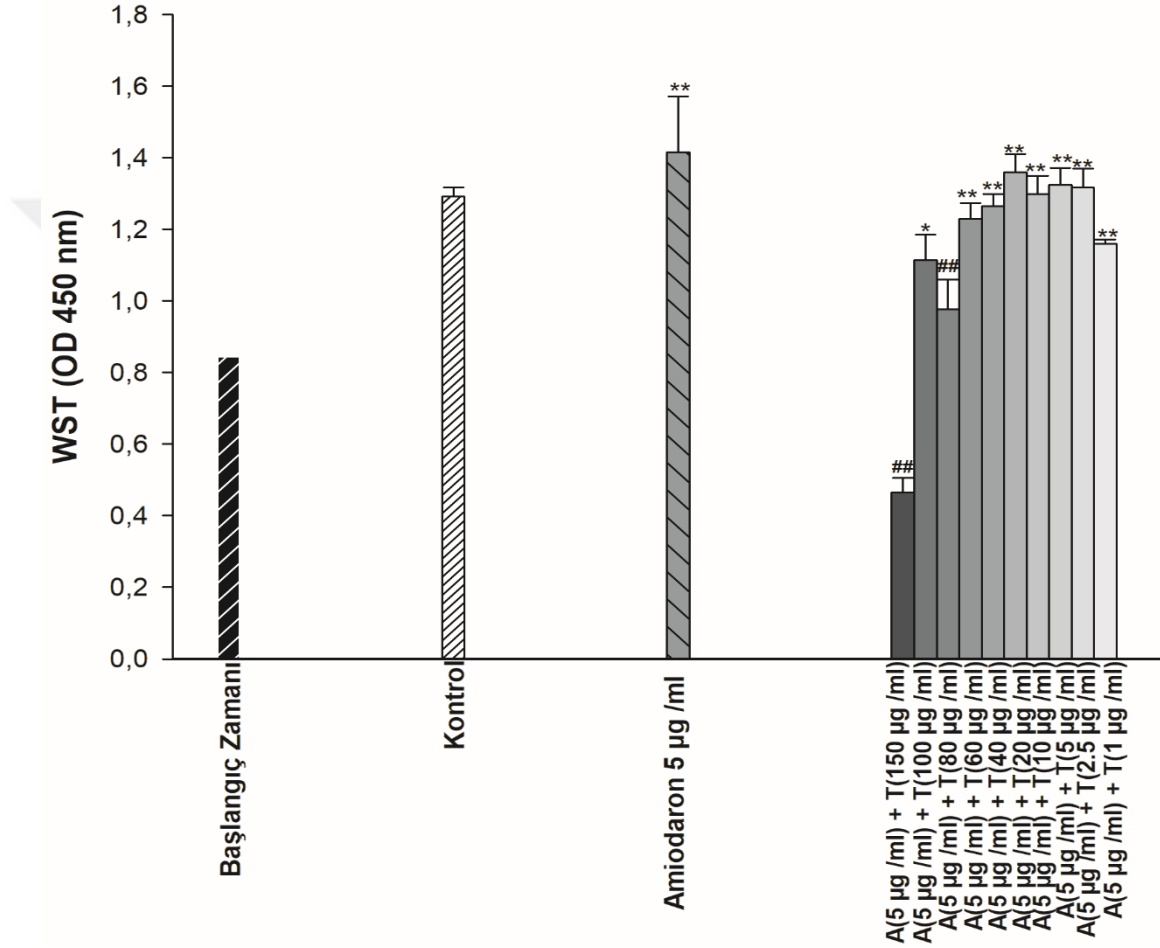


Şekil 4.39. Amiodaron 2.5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p < 0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p < 0.01$)

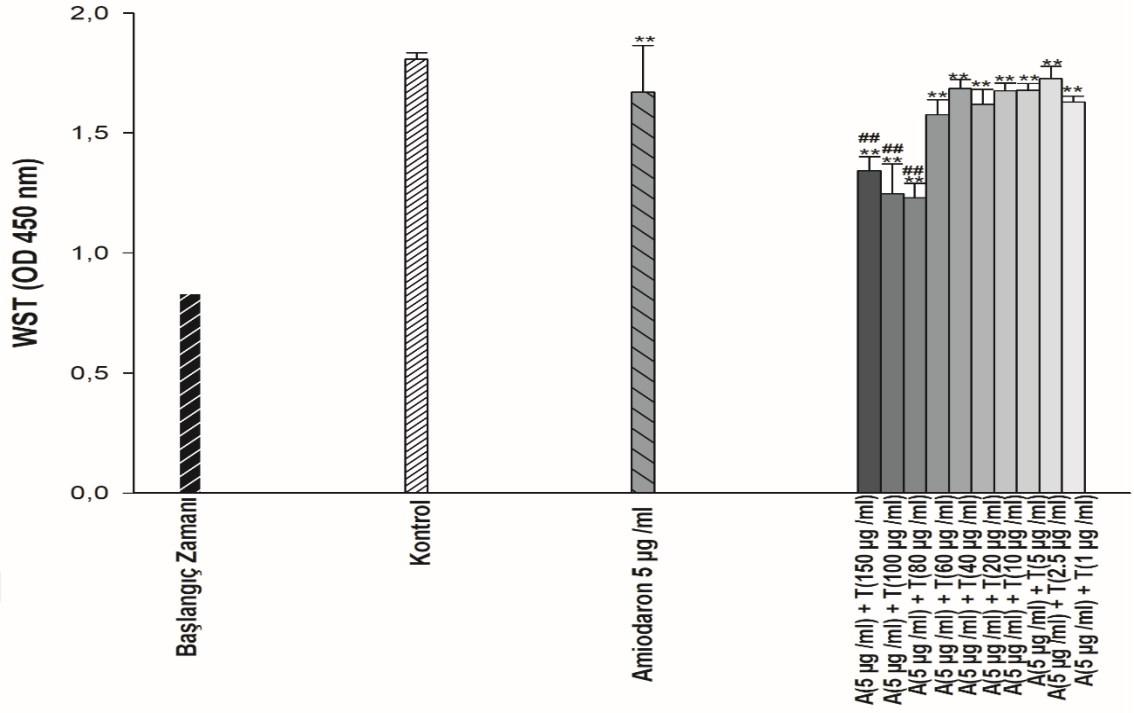


Şekil 4.40. Amiodaron 2.5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p < 0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p < 0.01$; *, $p < 0.05$)

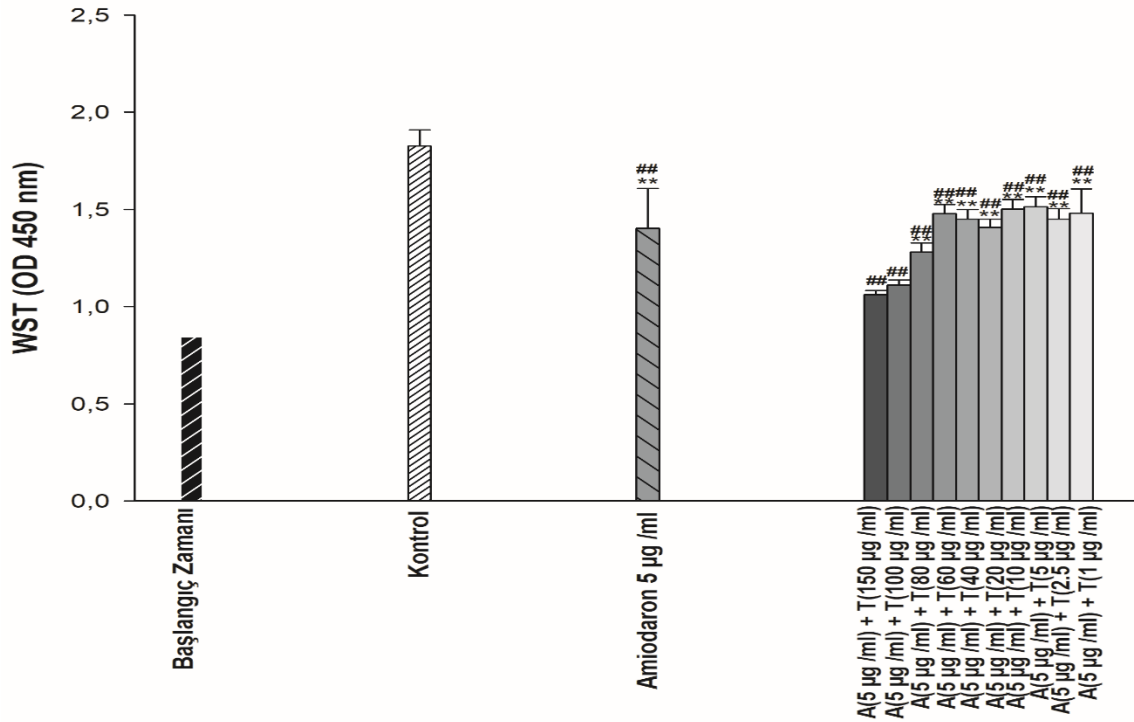
MDA-MB-231 hücrelerinde amiodaronun 5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 80 µg /ml dozuyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.41, 4.42 ve 4.43).



Şekil 4.41. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, p<0.01; #, p<0.05) ve sitotoksisiteye etkisi (**, p<0.01; *, p<0.05)



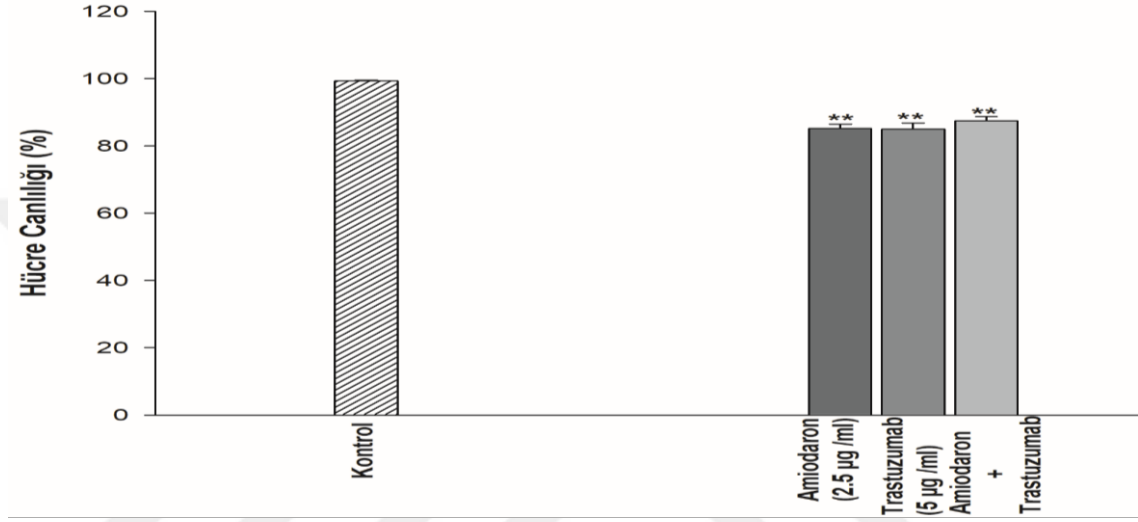
Şekil 4.42. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)



Şekil 4.43. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

4.2.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

Trastuzumabın uyguladığımız dozları ve inkübasyon sürelerinde IC50 değerleri olmadığı için kombinasyon uygulamasının etkili olan dozlarında ve inkübasyon süresindeki (24 saat) WST-8 testi sonuçlarını desteklemek için tripan mavisi testi kullanılmıştır. Her sayım kendi içinde tekrarlanmış olup excel programında yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır. Sonrasında instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilip grafiklendirilmiştir (Şekil 4.44.)



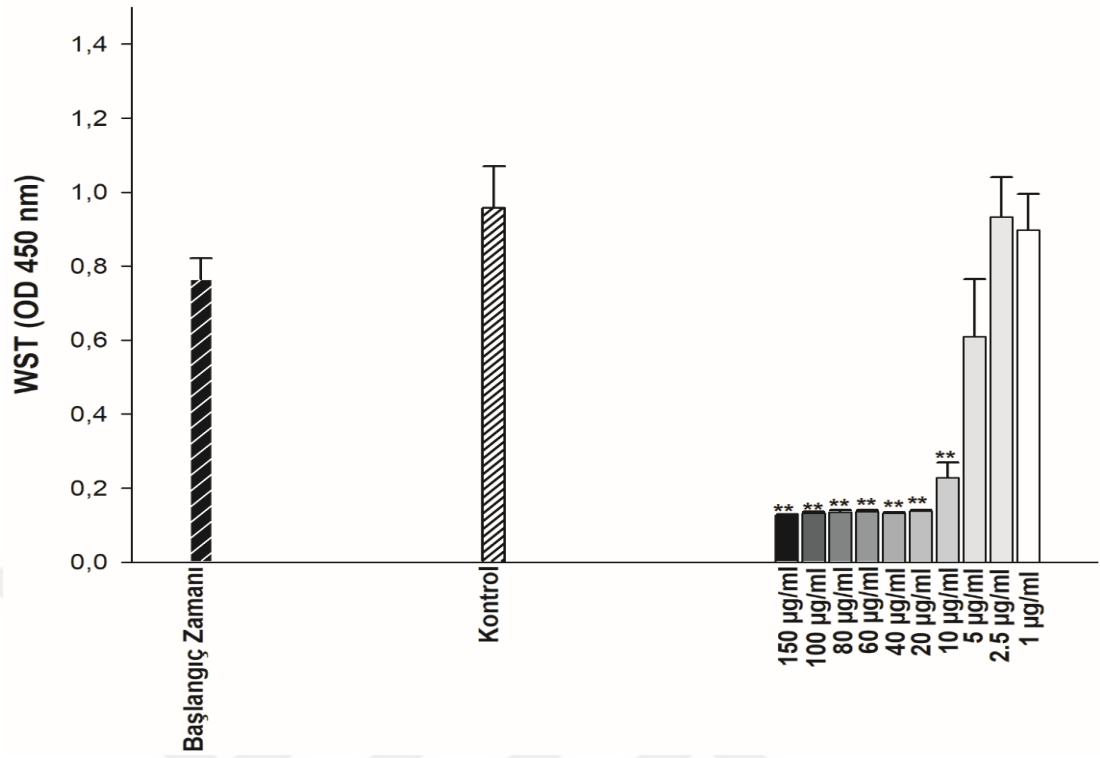
Şekil 4.44. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MDA-MB-231 hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01).

4.3. MCF-10A Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri

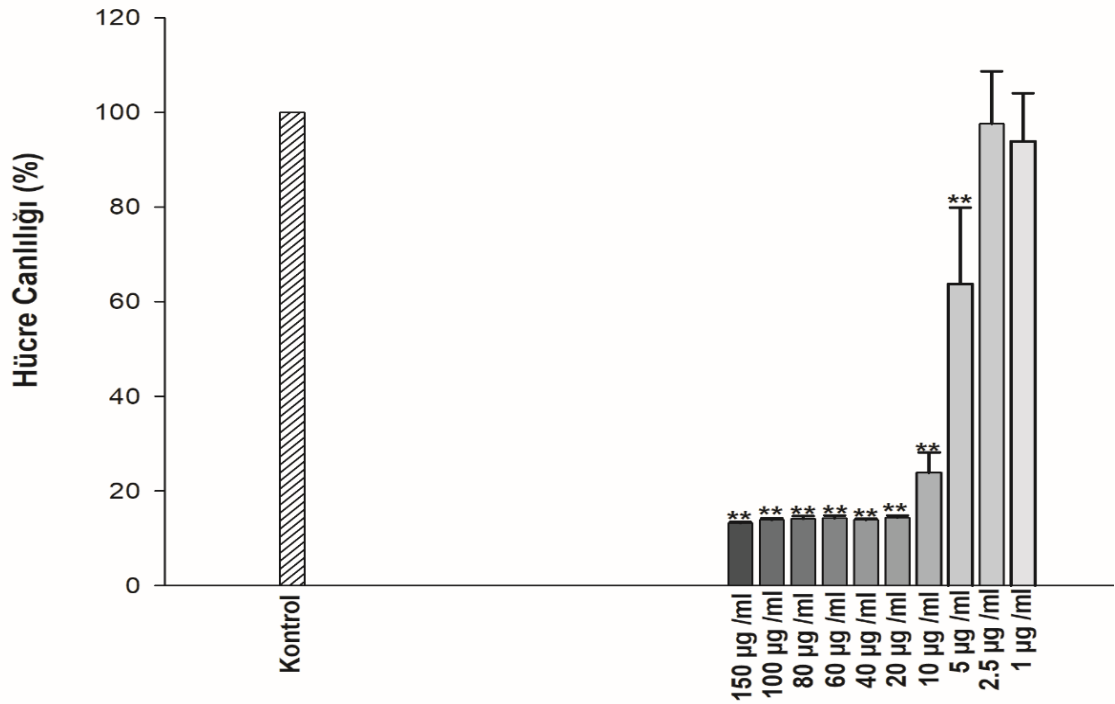
Amiodaron ve trastuzumabın MCF-10A hücresindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml dozlarda denendi. Sonuçlar sigmaplot istatistik programında değerlendirilip çizilmiştir. Trastuzumab için hiçbir inkübasyon süresinde IC50 değeri bulunmamıştır.

4.3.1. Amiodaronun tek başına MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

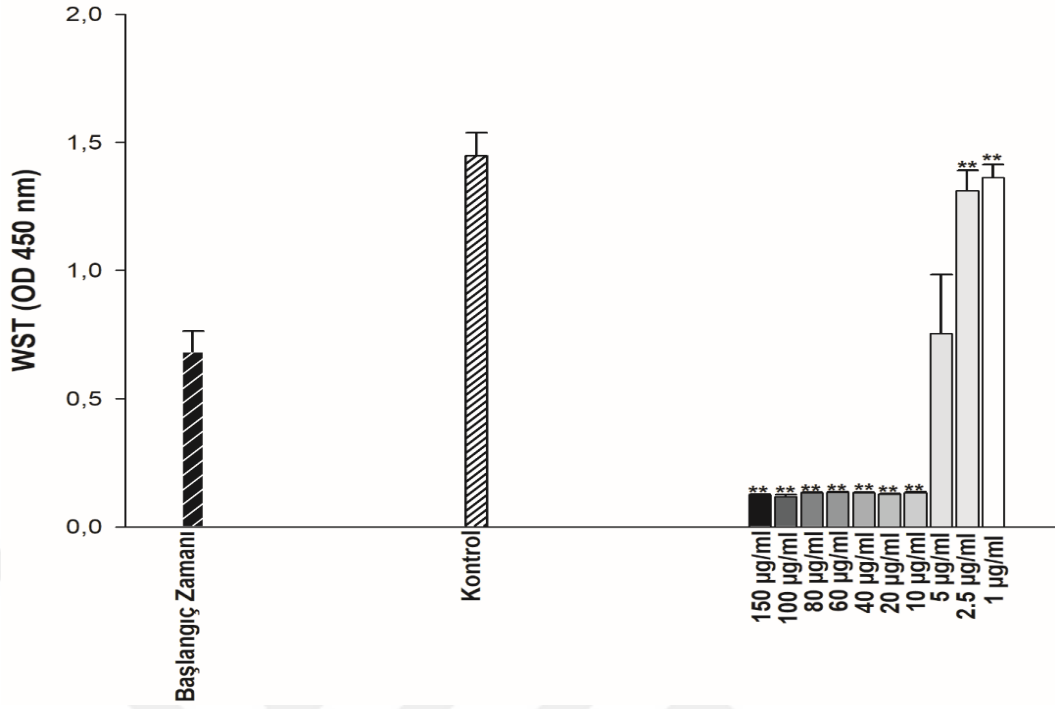
Amiodaron, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-10A hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-5 µg /ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.45, 4.46, 4.47, 4.48, 4.49 ve 4.50).



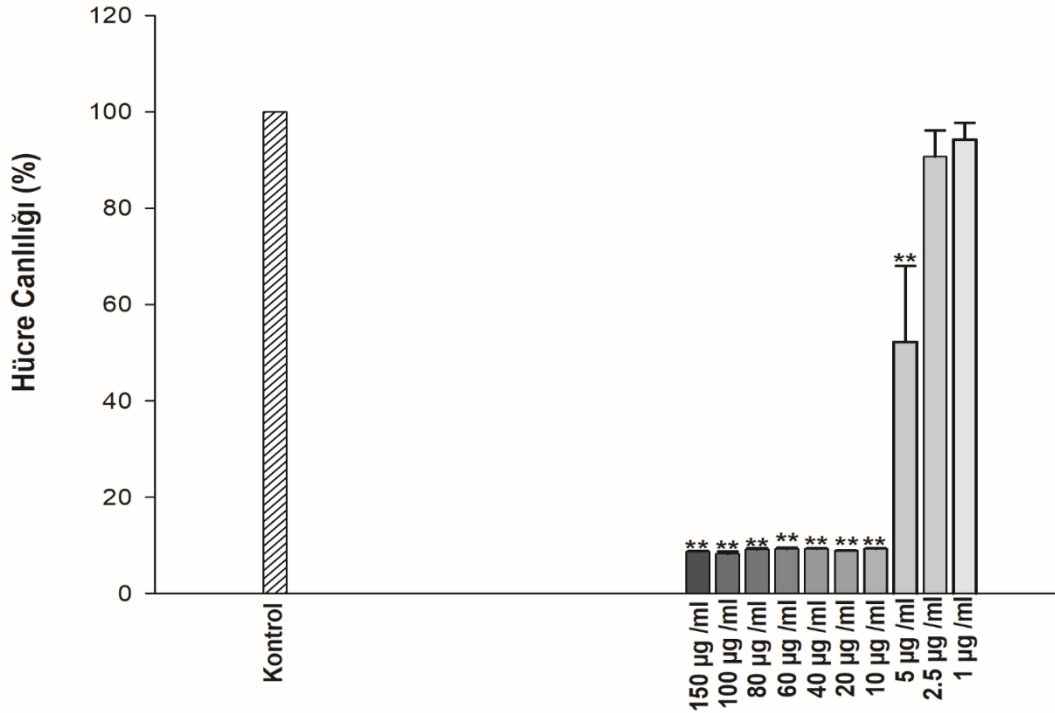
Şekil 4.45 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, $p<0.01$).



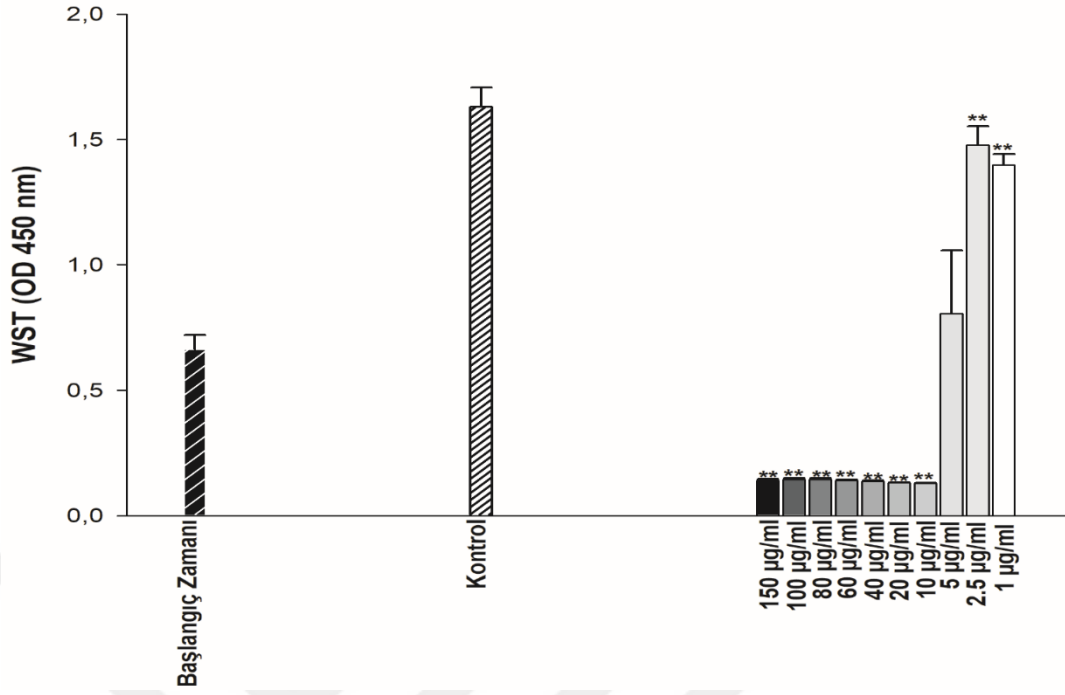
Şekil 4.46 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, $p<0.01$)



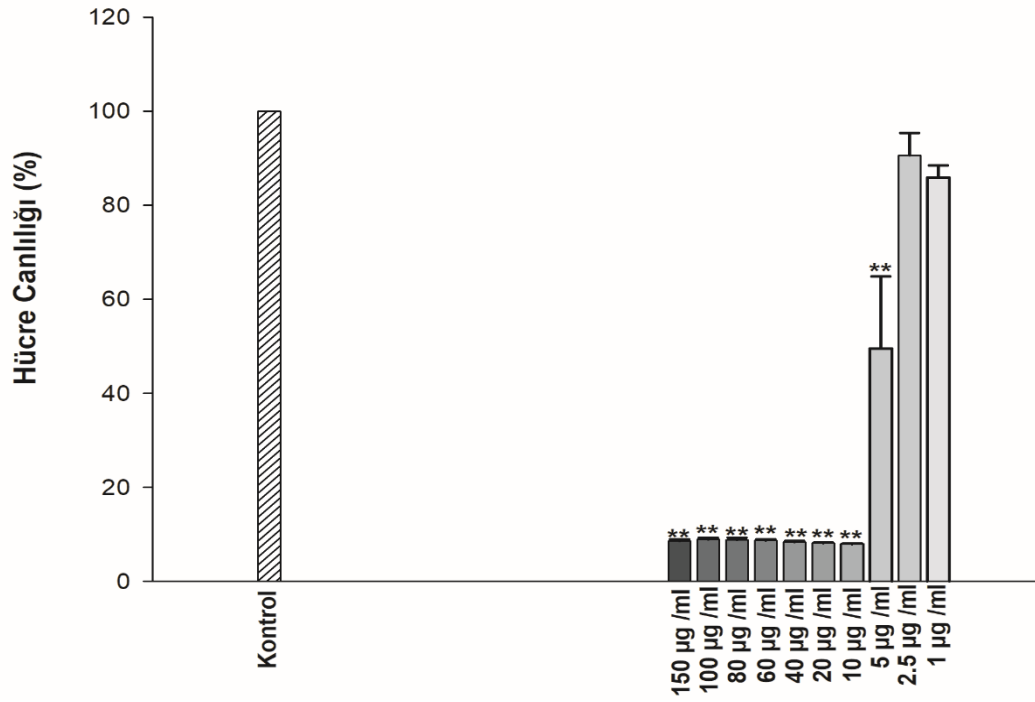
Şekil 4.47 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, p<0.01).



Şekil 4.48 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)



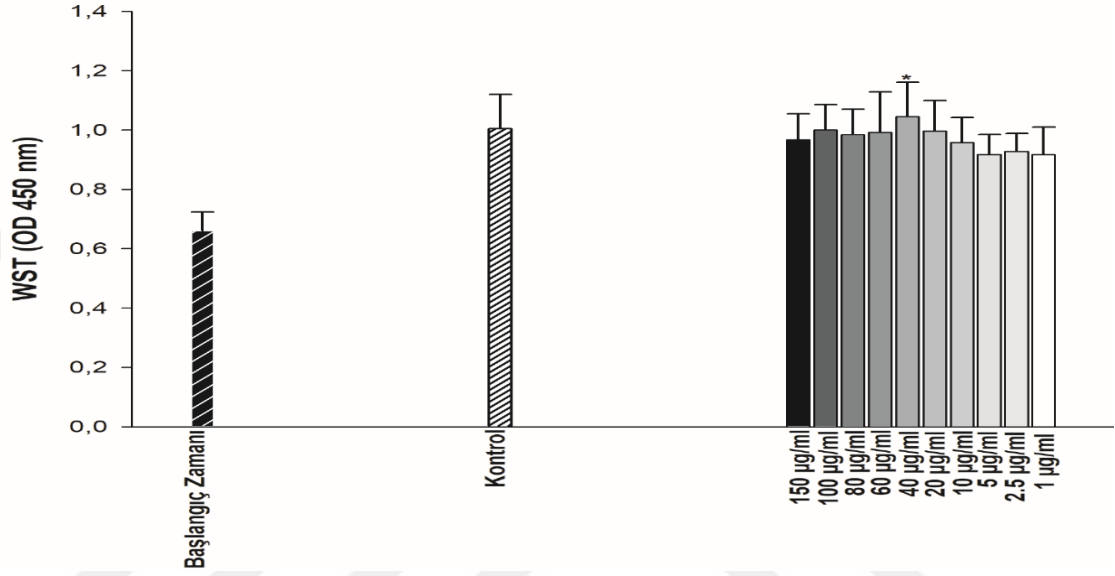
Şekil 4.49 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, $p<0.01$).



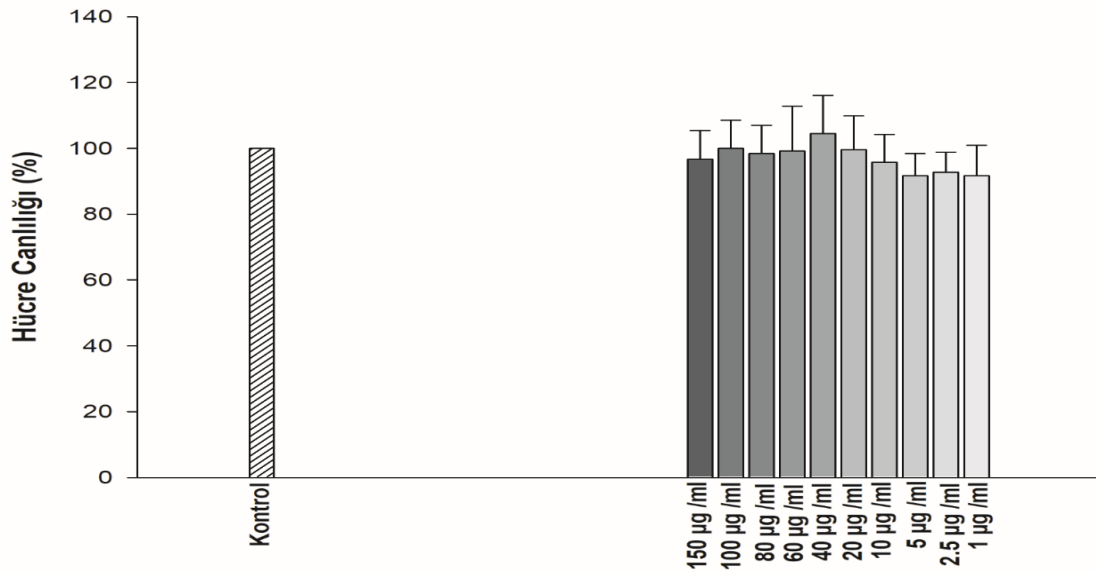
Şekil 4.50 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, $p<0.01$)

4.3.2. Trastuzumabın tek başına MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

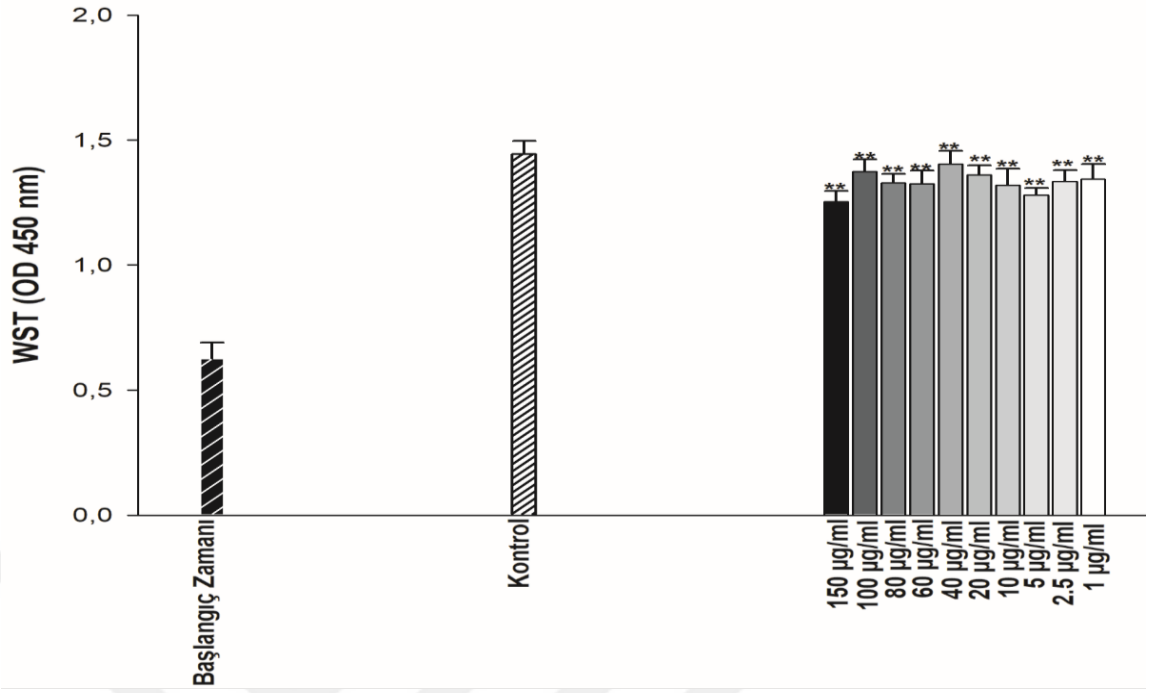
Trastuzumab, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-10A hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda antiproliferatif etki göstermemiş olup 48, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150 µg /ml dozunda ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.51, 4.52, 4.53, 4.54, 4.55 ve 4.56).



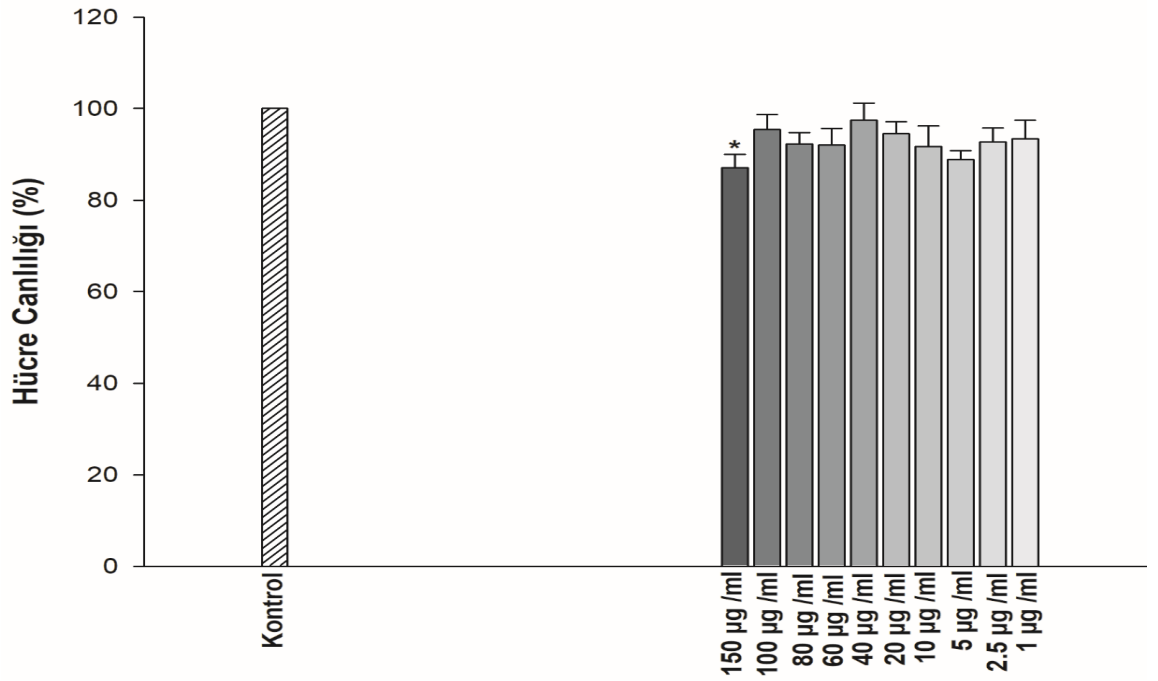
Şekil 4.51 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksikite etkisi. (*, p<0.05).



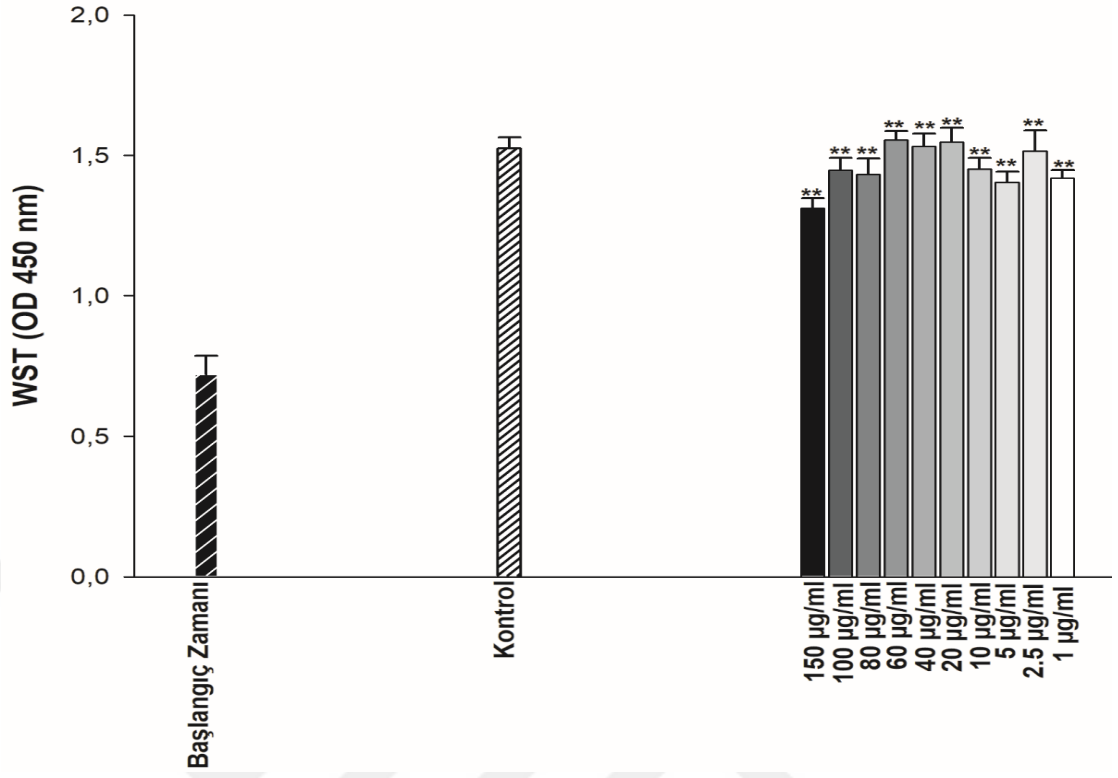
Şekil 4.52 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi



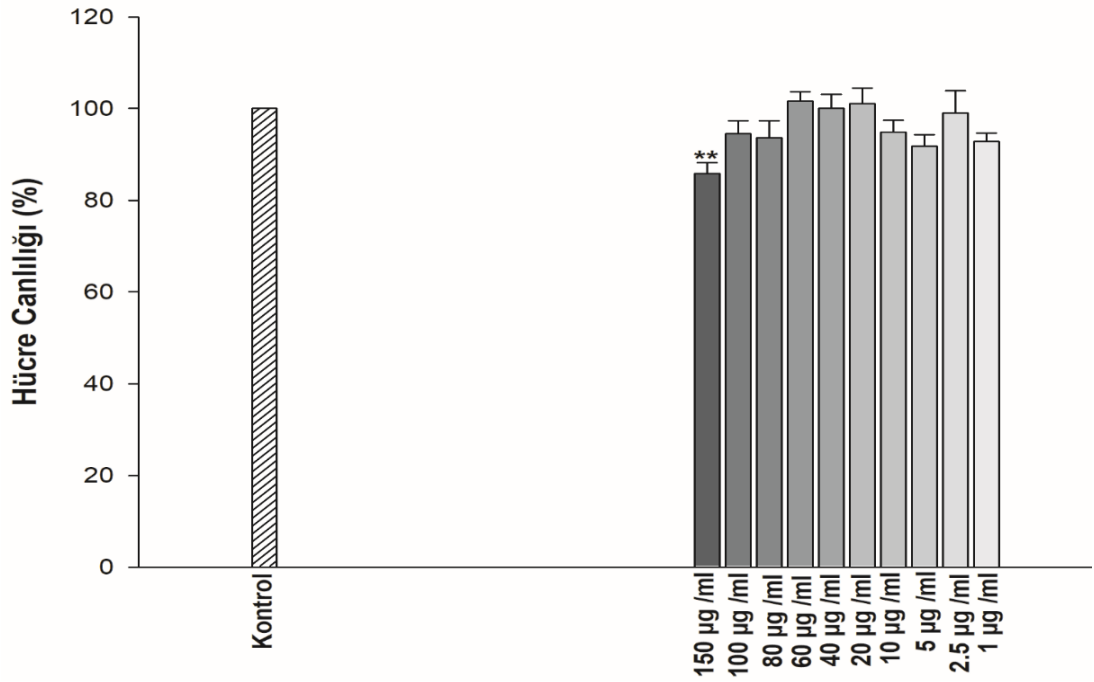
Şekil 4.53 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksisite etkisi. (**, $p<0.01$)



Şekil 4.54 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi (*, $p<0.05$)



Şekil 4.55 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, p<0.01)

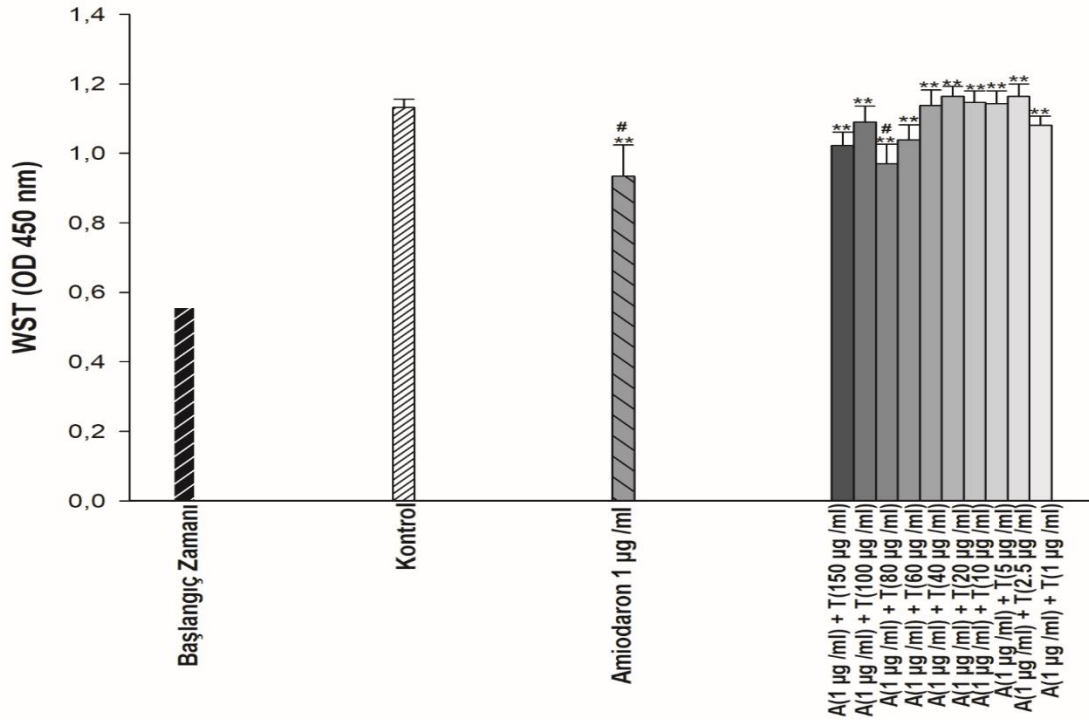


Şekil 4.56 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)

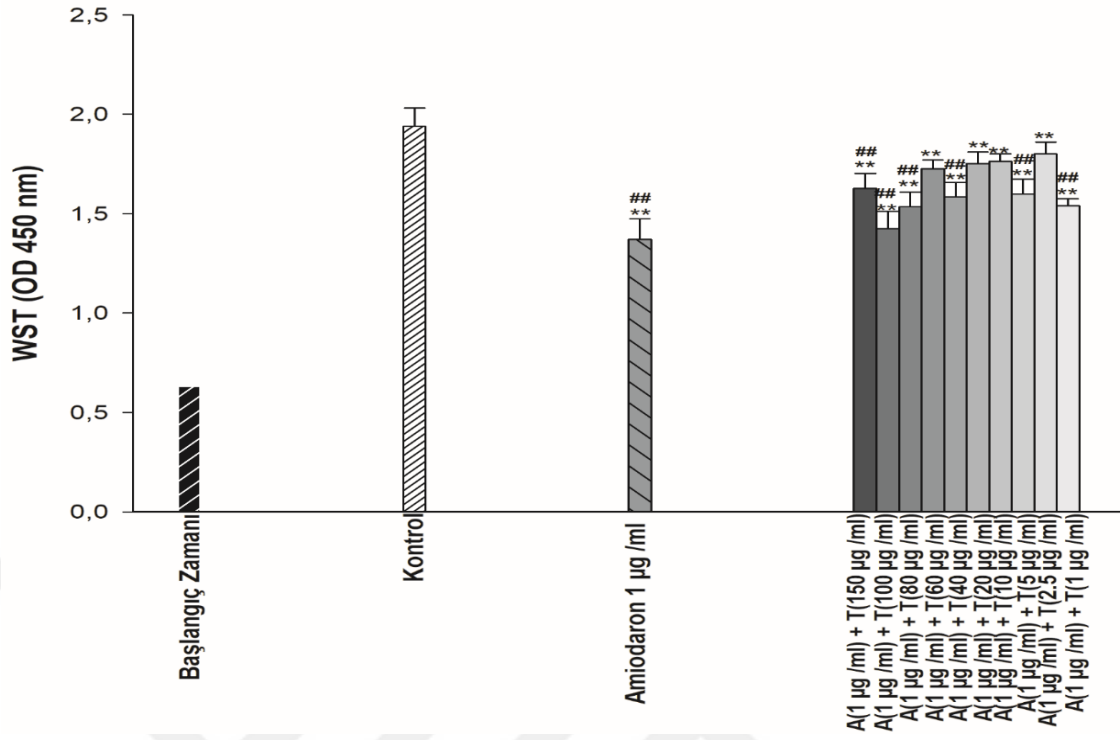
4.3.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

Kombinasyon çalışmasında Trastuzumab için; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml, amiodaron için ise 5, 2.5, 1 µg /ml dozlar belirlendi. Kombinasyonun MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde incelendi. İstatistik programından elde edilen veriler kullanılarak grafikleri çizildi.

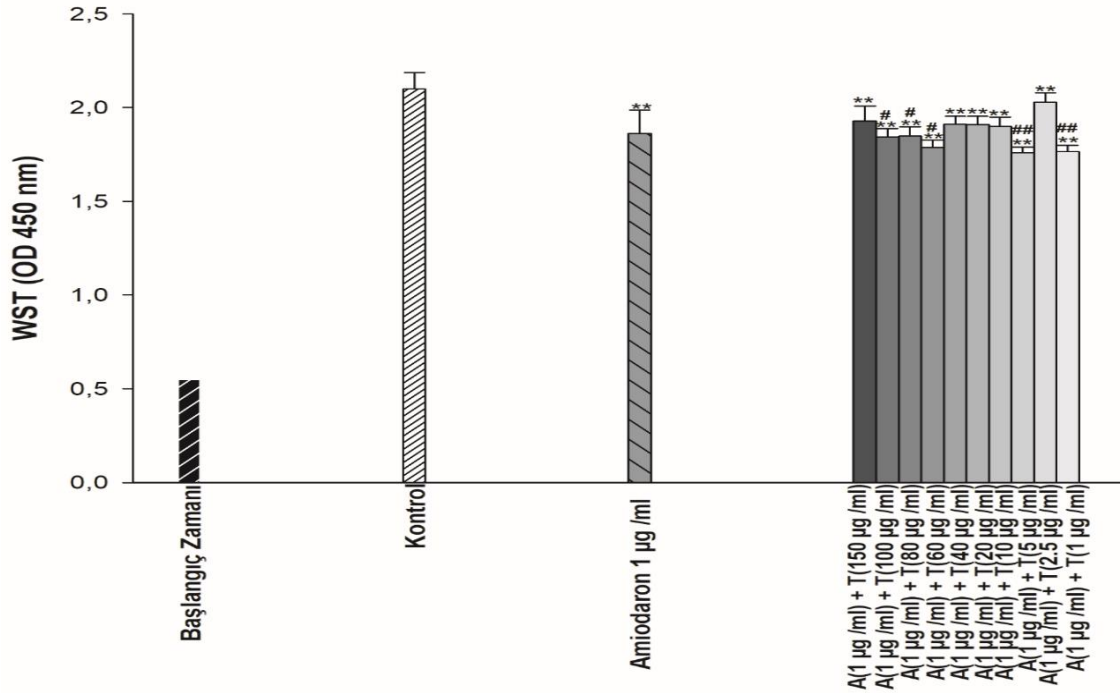
MCF-10A hücrelerinde amiodaronun 1 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 80 µg /ml dozuyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 40, 5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 100, 80, 60, 5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.57, 4.58, 4.59).



Şekil 4.57. Amiodaron 1 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (#, p<0.05) ve sitotoksisiteye etkisi (**, p<0.01)

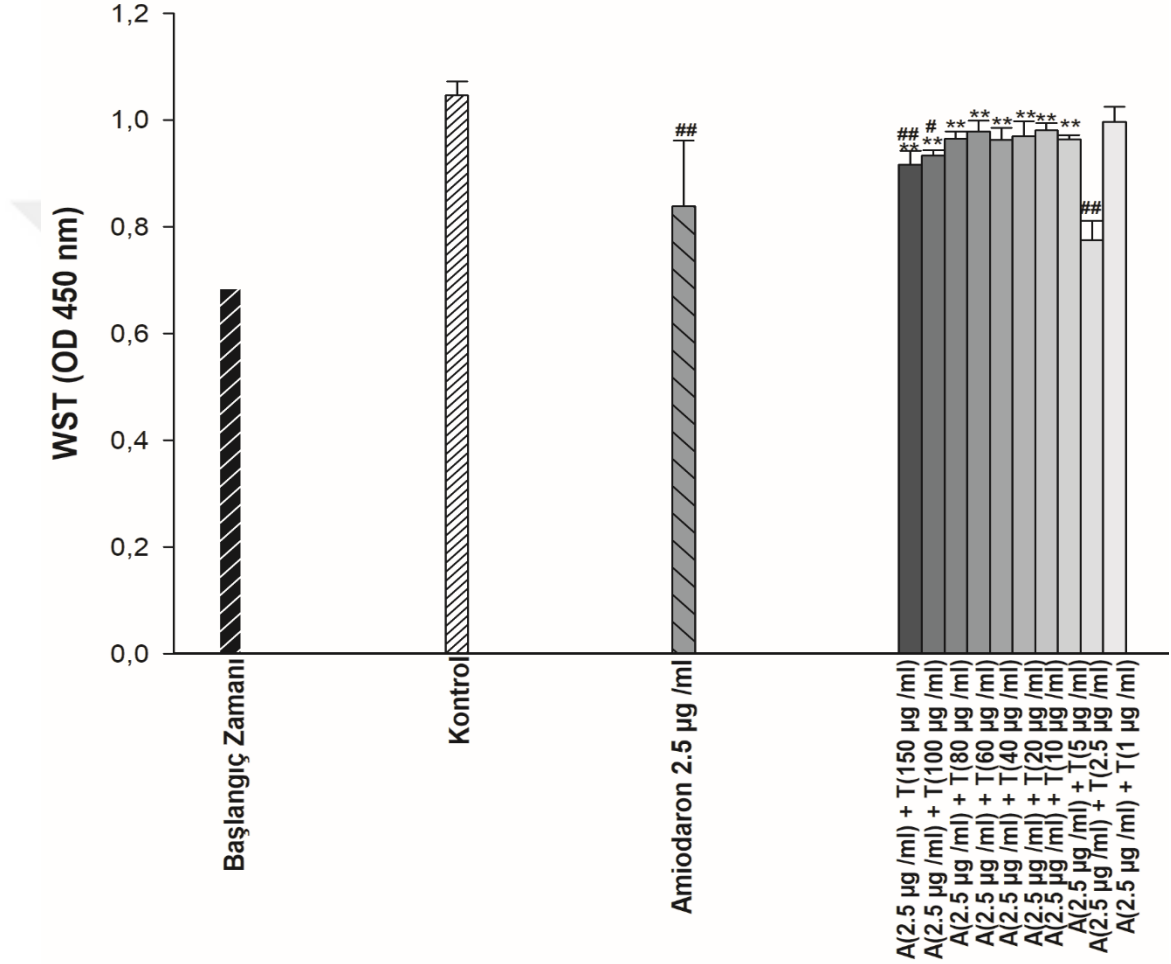


Şekil 4.58. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

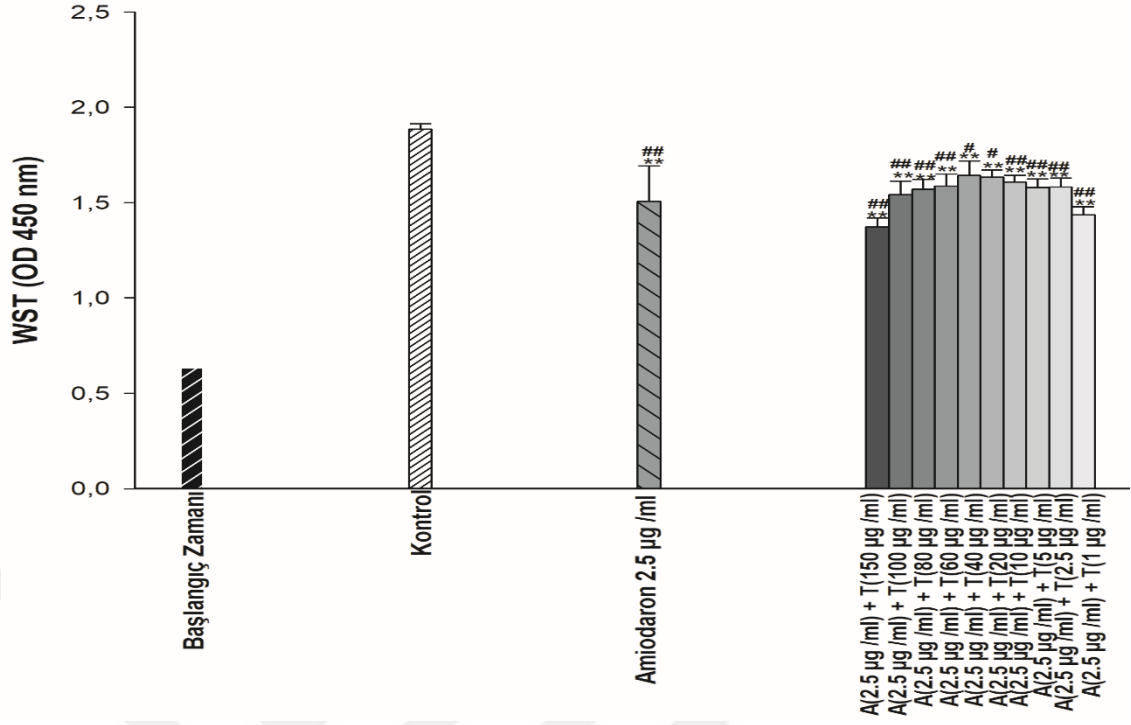


Şekil 4.59. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

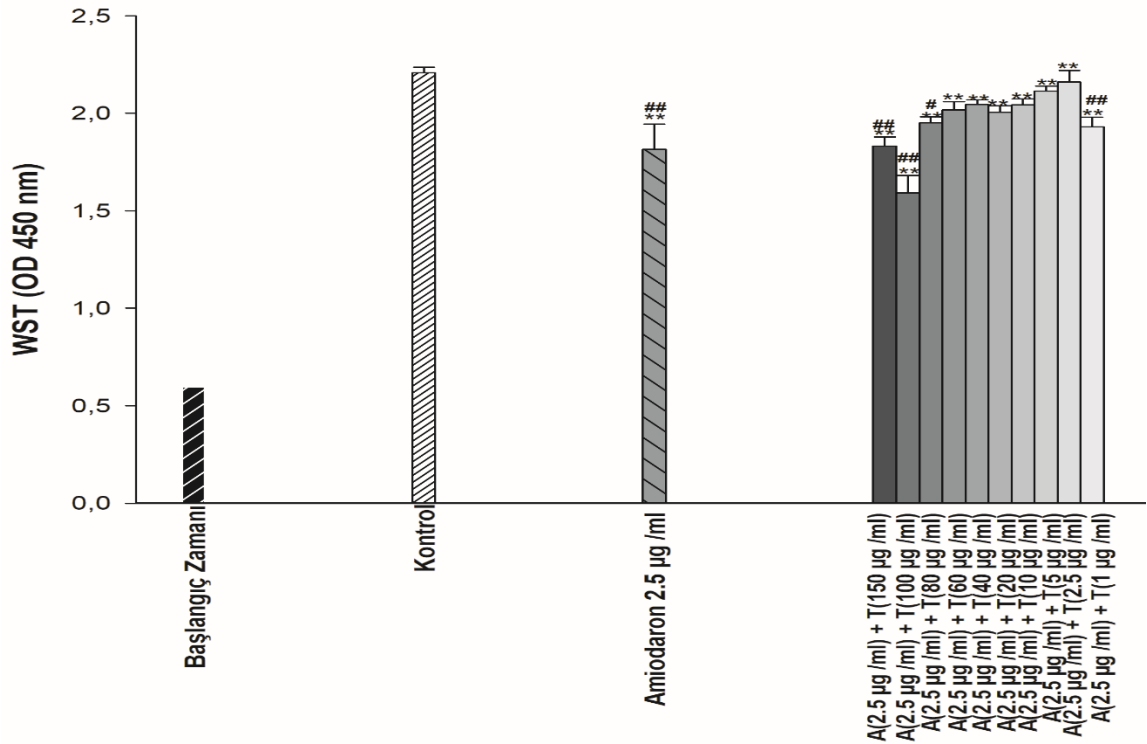
MCF-10A hücrelerinde amiodaronun 2,5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 2.5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığında olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100, 80 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.60, 4.61 ve 4.62).



Şekil 4.60. Amiodaron 2,5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, p<0.01; #, p<0.05) ve sitotoksositeye etkisi (**, p<0.01)

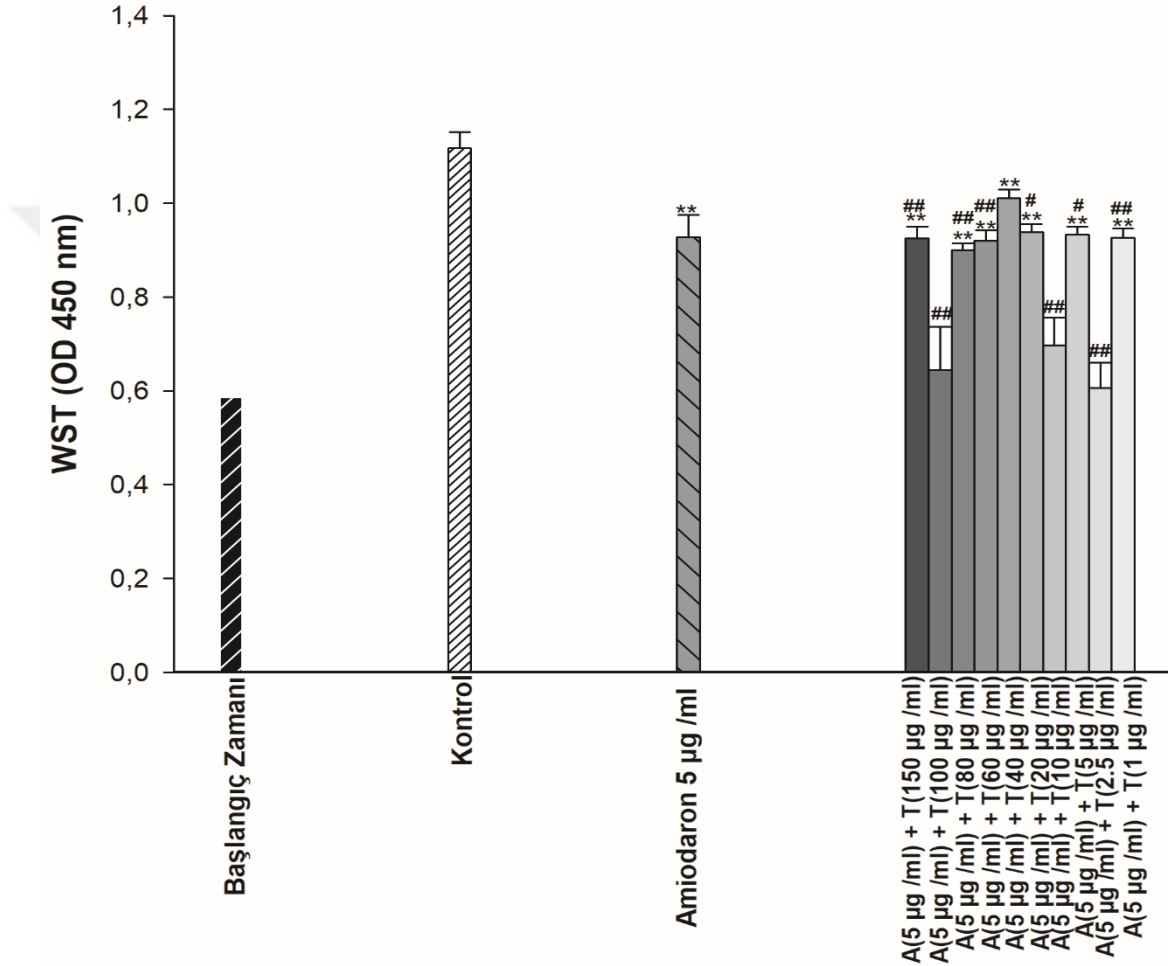


Şekil 4.61. Amiodaron 2.5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

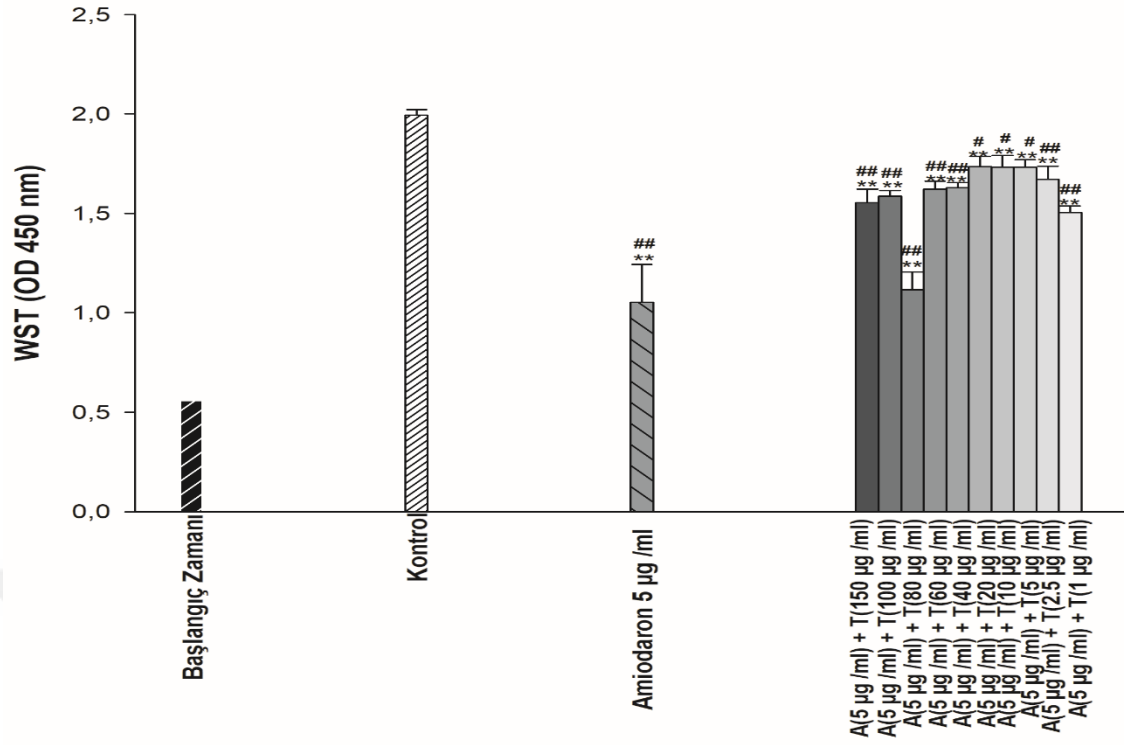


Şekil 4.62. Amiodaron 2.5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

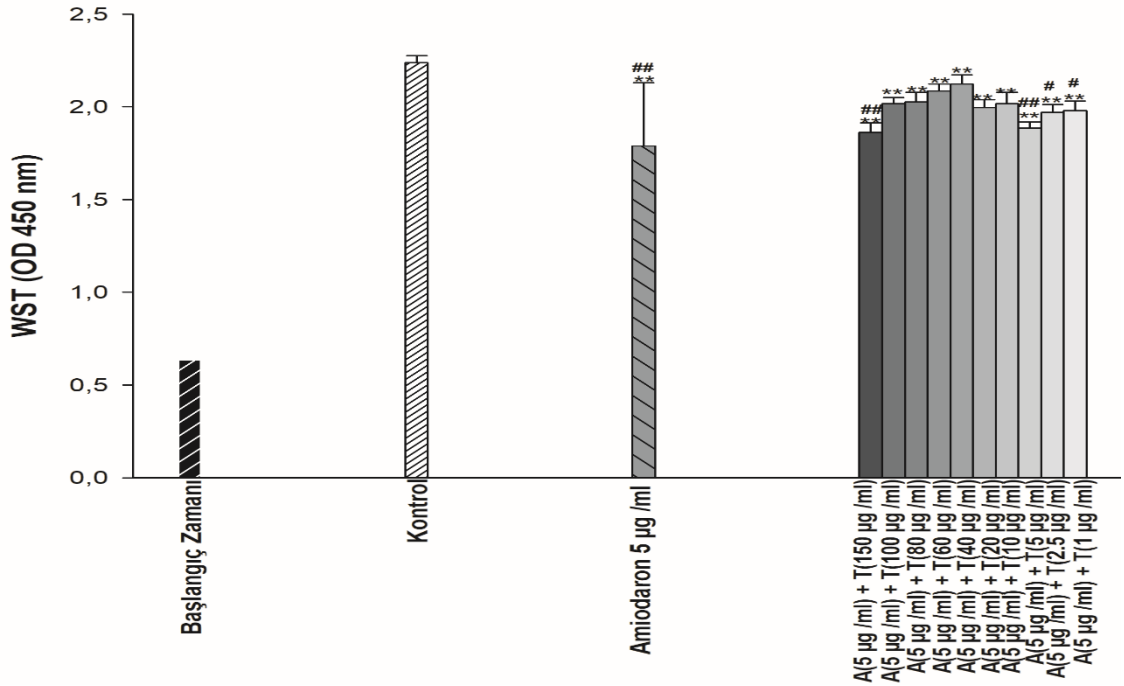
MCF-10A hücrelerinde amiodaronun 5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 60, 20, 10, 5, 2.5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığında olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 5, 2.5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.63, 4.64, 4.65).



Şekil 4.63. Amiodaron 5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, p<0.01; #, p<0.05) ve sitotoksisiteye etkisi (**, p<0.01)



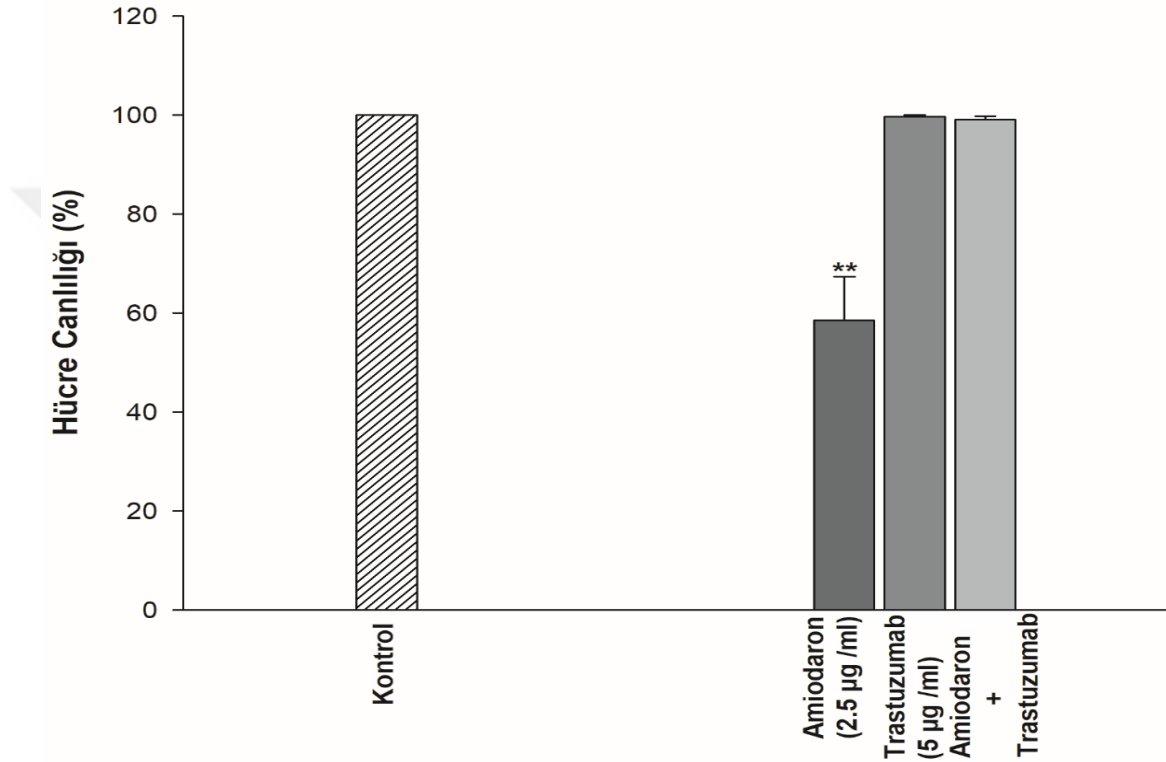
Şekil 4.64. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$)



Şekil 4.65. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$)

4.3.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

Trastuzumabın uyguladığımız dozları ve inkübasyon sürelerinde IC50 değerleri olmadığı için kombinasyon uygulamasının etkili olan dozlarında ve inkübasyon süresindeki (24 saat) WST-8 testi sonuçlarını desteklemek için tripan mavisi testi kullanılmıştır. Her sayım kendi içinde tekrarlanmış olup excel programında yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır. Sonrasında instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilip grafiklendirilmiştir (Şekil 4.66)



Şekil 4.66. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde MCF-10A hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01).

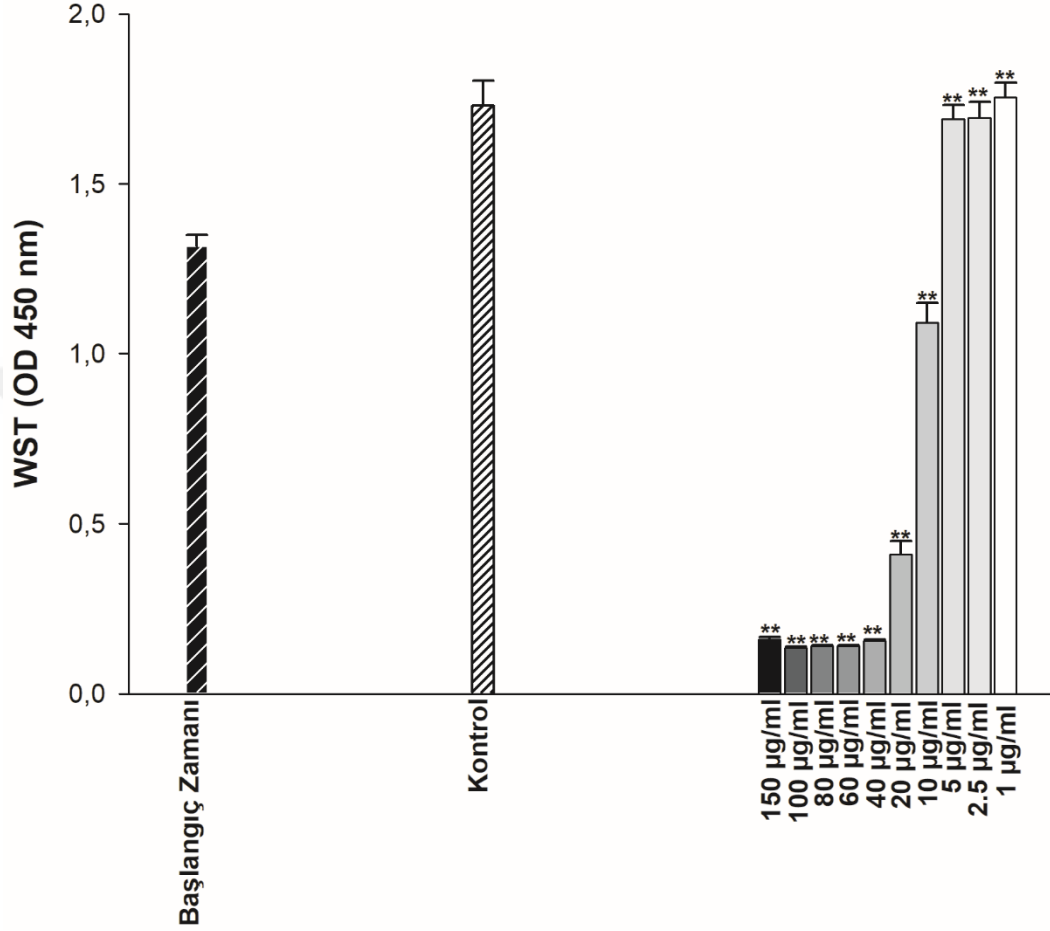
4.4. HUVEC Hücre Hattının Sitotoksik Etkileri

Amiodaron ve trastuzumabın HUVEC hücresindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml dozlarda denendi. Sonuçlar sigmaplot istatistik programında değerlendirilip çizilmiştir. Trastuzumab için hiçbir inkübasyon süresinde IC50 değeri bulunmamıştır.

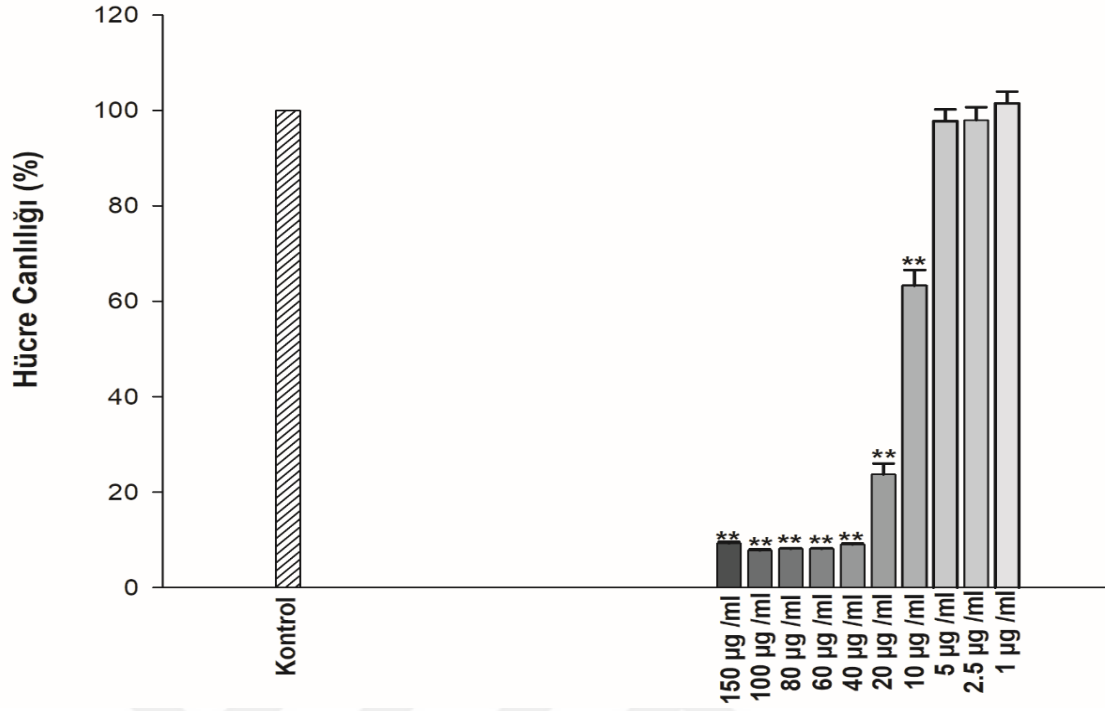
4.4.1. Amiodaronun tek başına HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

Amiodaron, 24 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda HUVEC hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150, 100, 80, 60, 40, 20 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki

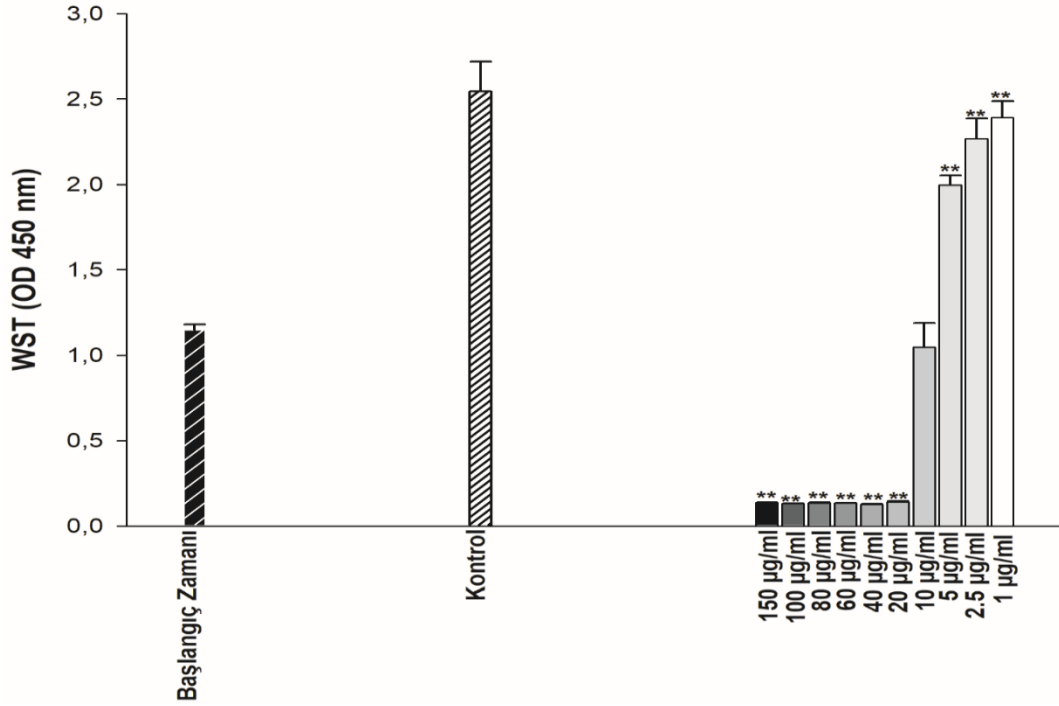
göstermiştir ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 150-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.67, 4.68, 4.69, 4.70, 4.71 ve 4.72).



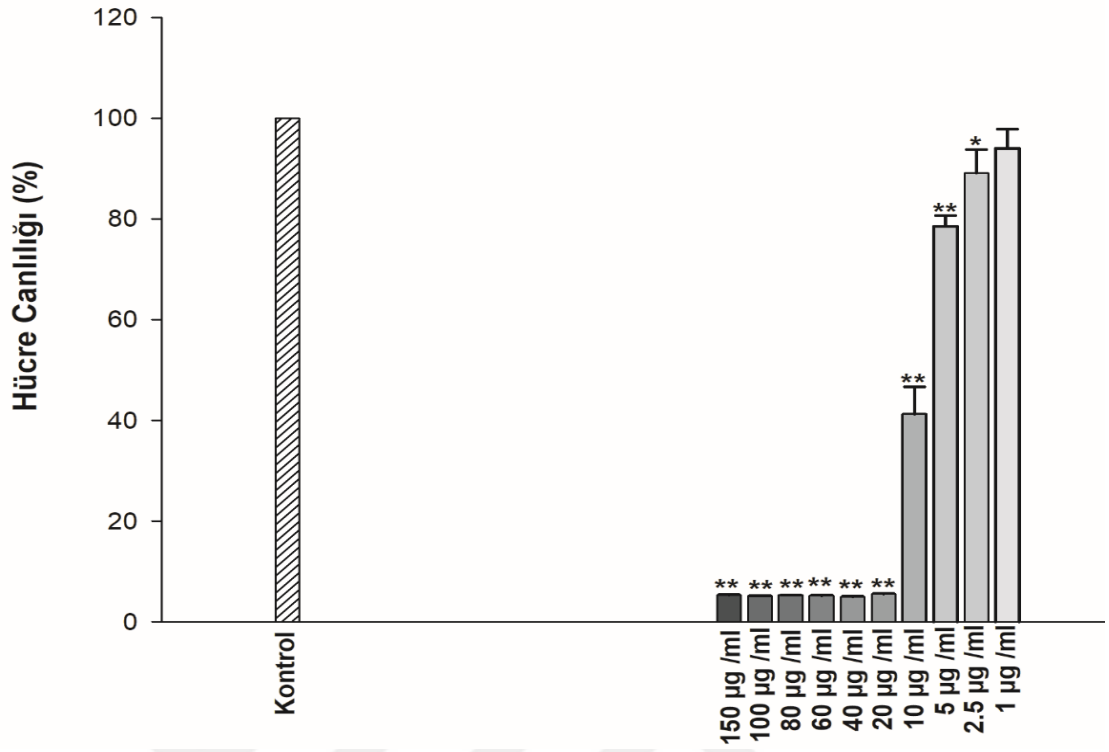
Şekil 4.67 Amiodaronun 150-1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, $p < 0.01$)



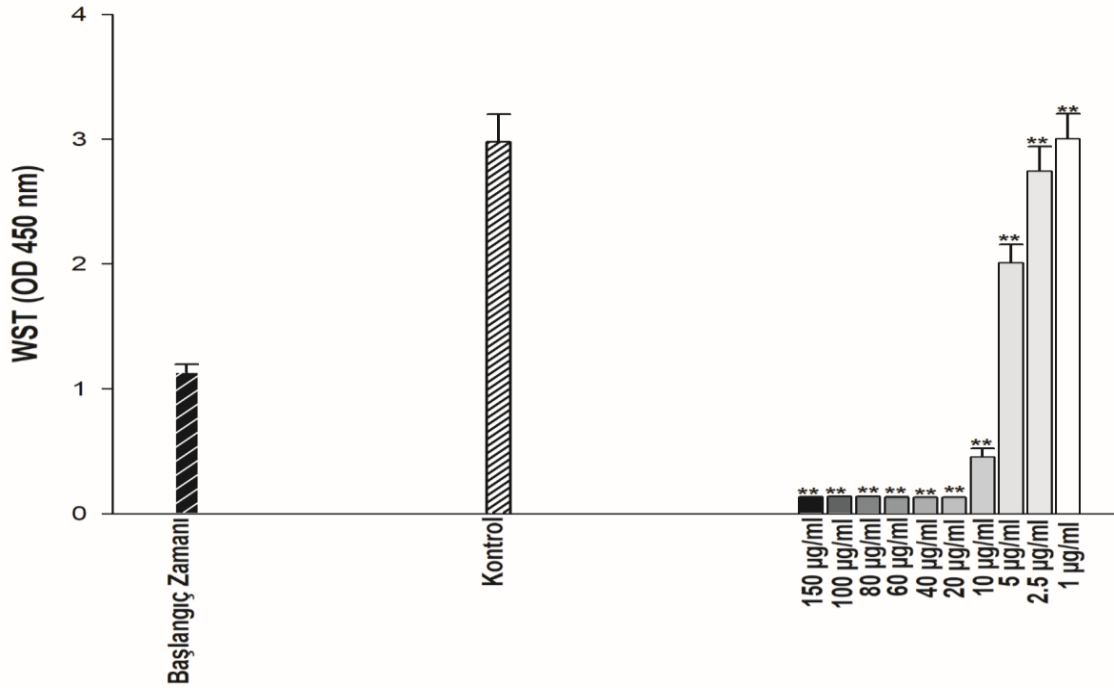
Şekil 4.68 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)



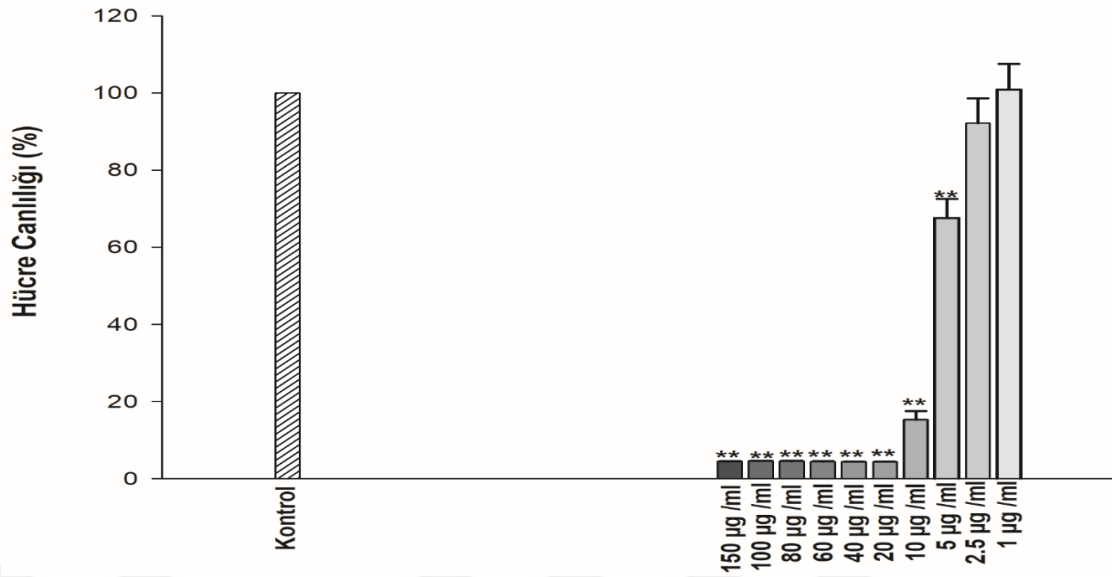
Şekil 4.69 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksosite etkisi. (**, p<0.01)



Şekil 4.70 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)



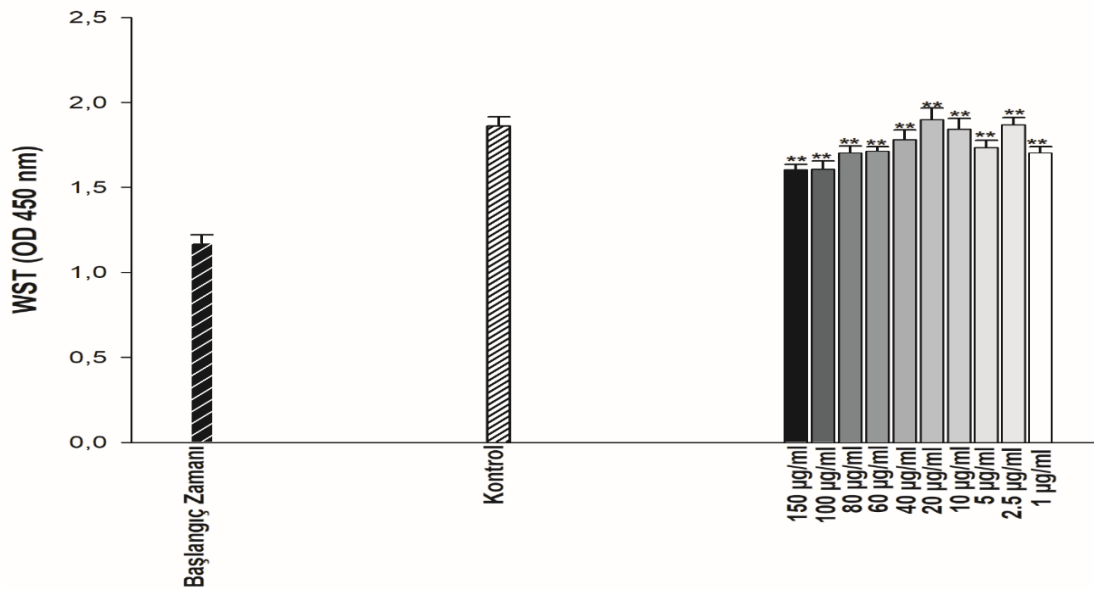
Şekil 4.71 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksosite etkisi. (**, p<0.01)



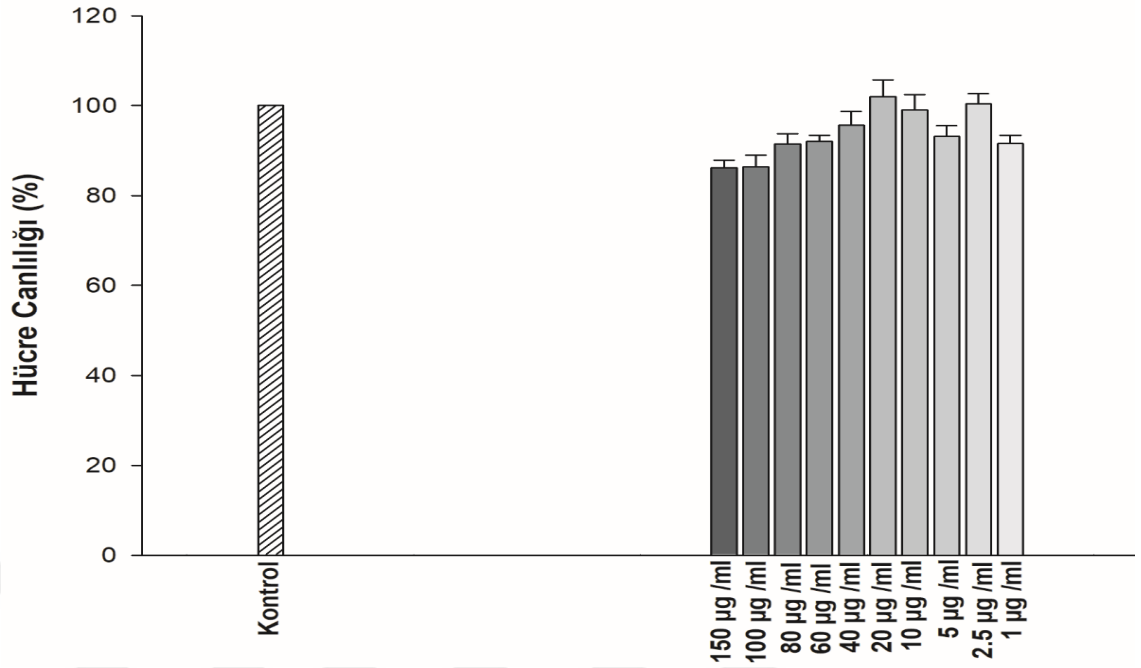
Şekil 4.72 Amiodaronun 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01)

4.4.2. Trastuzumabın tek başına HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

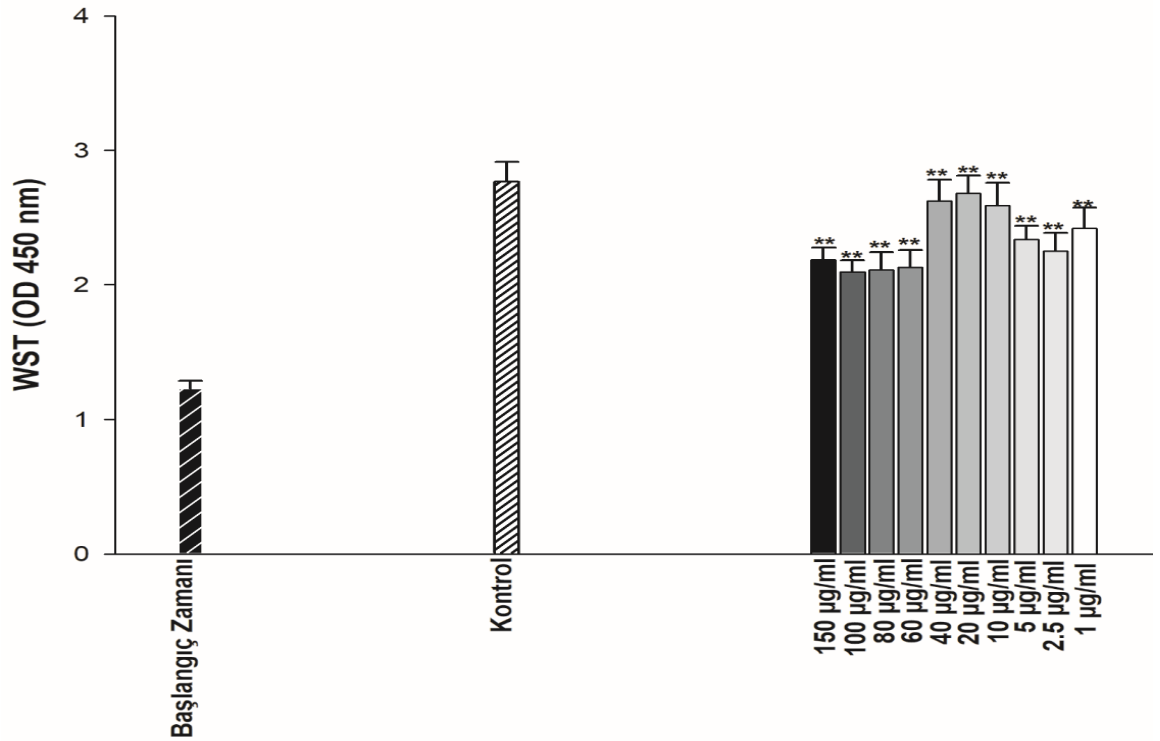
Trastuzumab, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda HUVEC hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir ve 24, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda antiproliferatif etki göstermemiş olup 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150, 100, 80, 60, 2.5 µg /ml dozlarında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur (Şekil 4.73, 4.74, 4.75, 4.76, 4.77 ve 4.78).



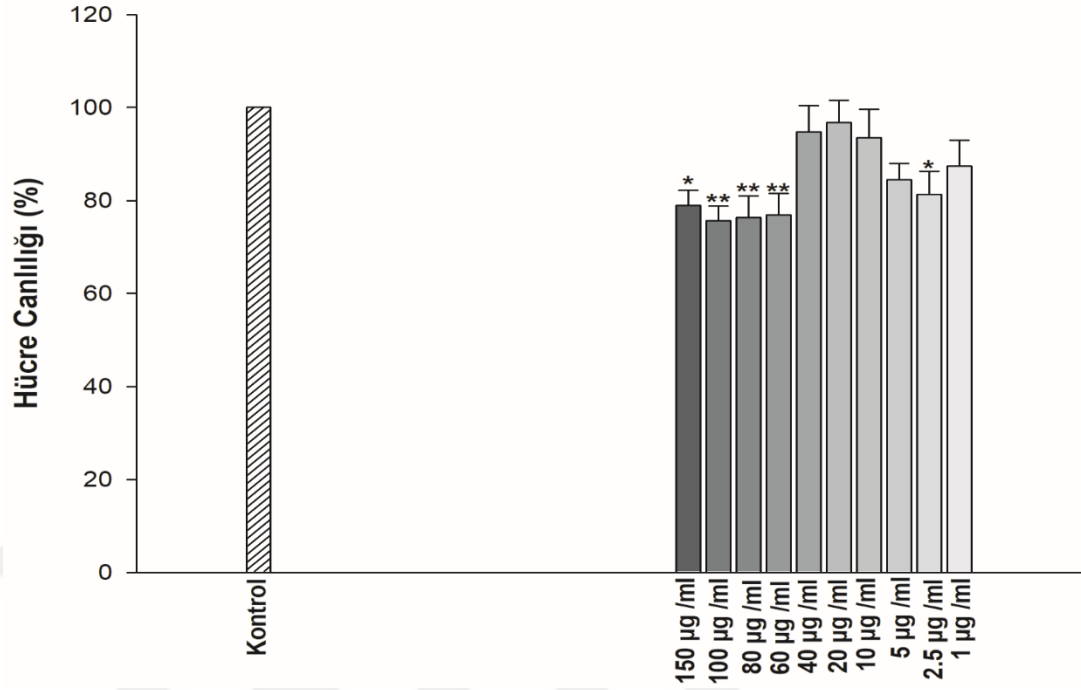
Şekil 4.73 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki sitotoksikite etkisi. (**, p<0.01)



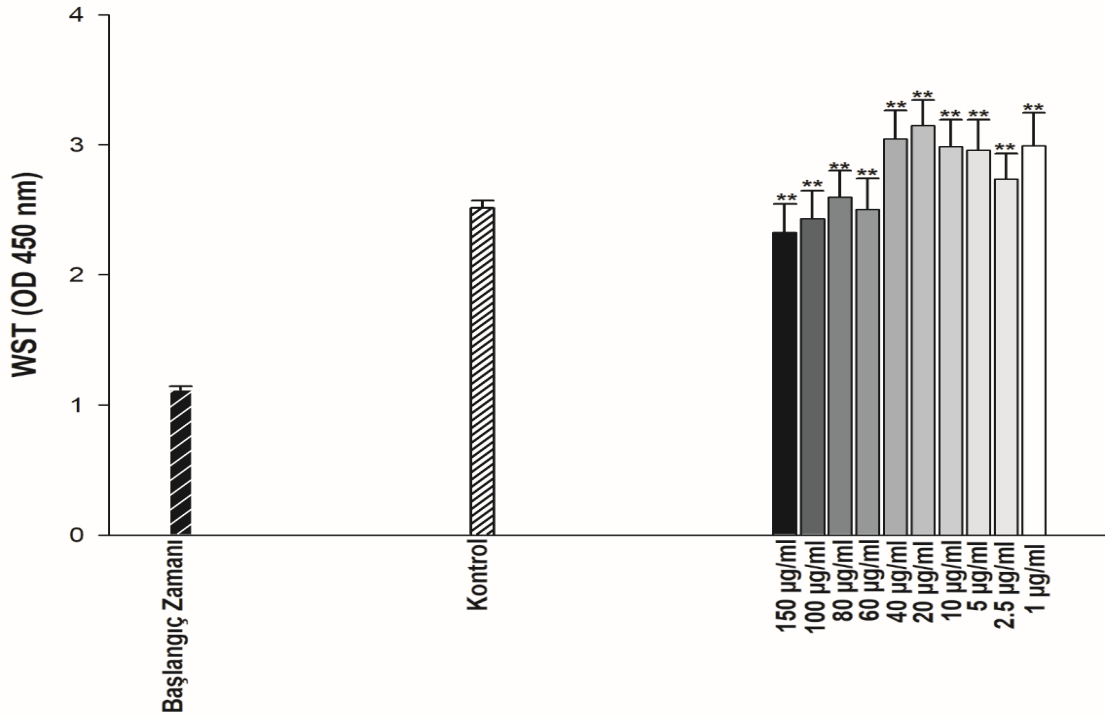
Şekil 4.74 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi



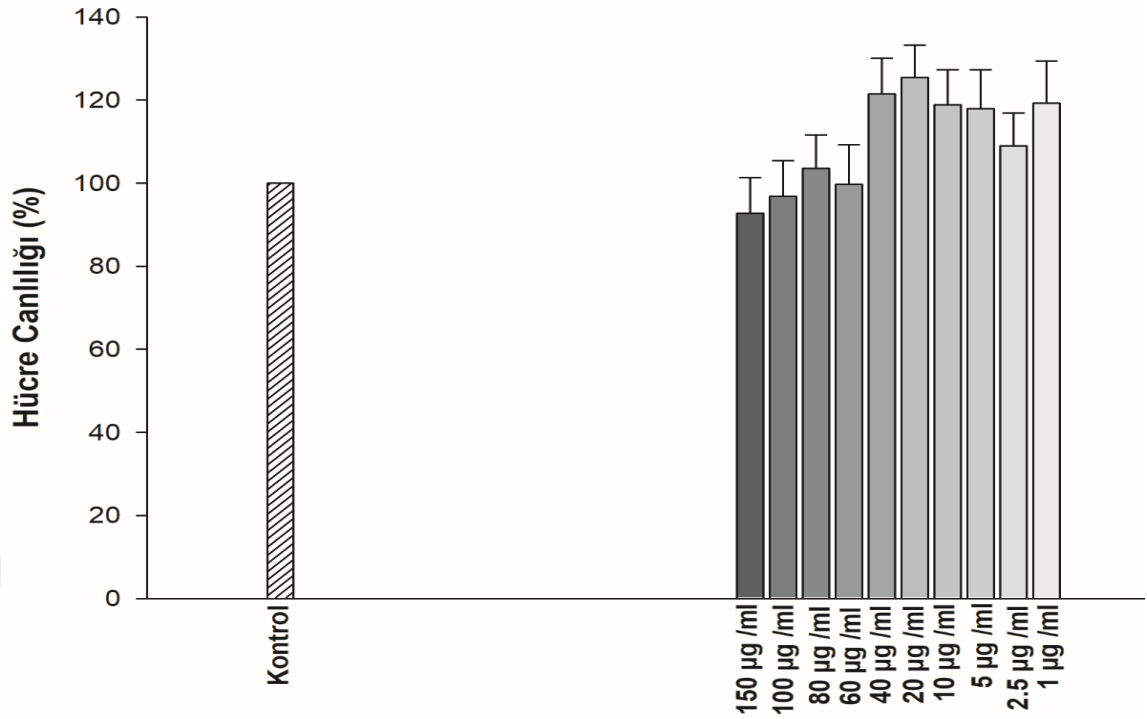
Şekil 4.75 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattında sitotoksikite etkisi. (**, p<0.01)



Şekil 4.76 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01; *, p<0.05)



Şekil 4.77 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki sitotoksikite etkisi. (**, p<0.01)

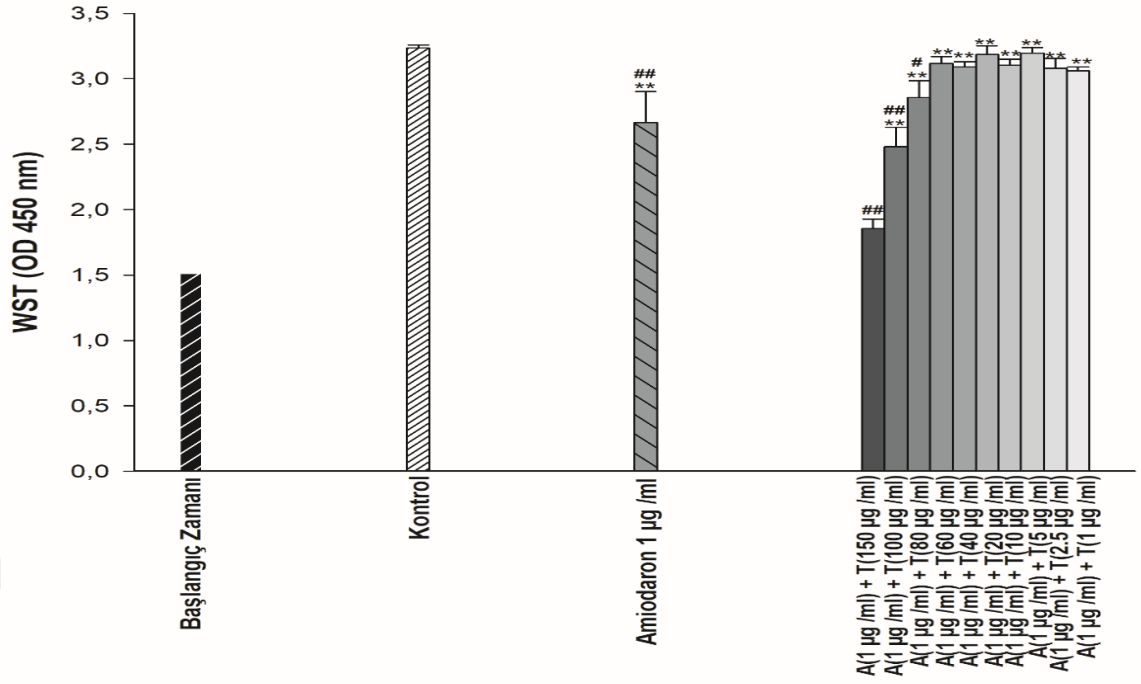


Şekil 4.78 Trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığının 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi

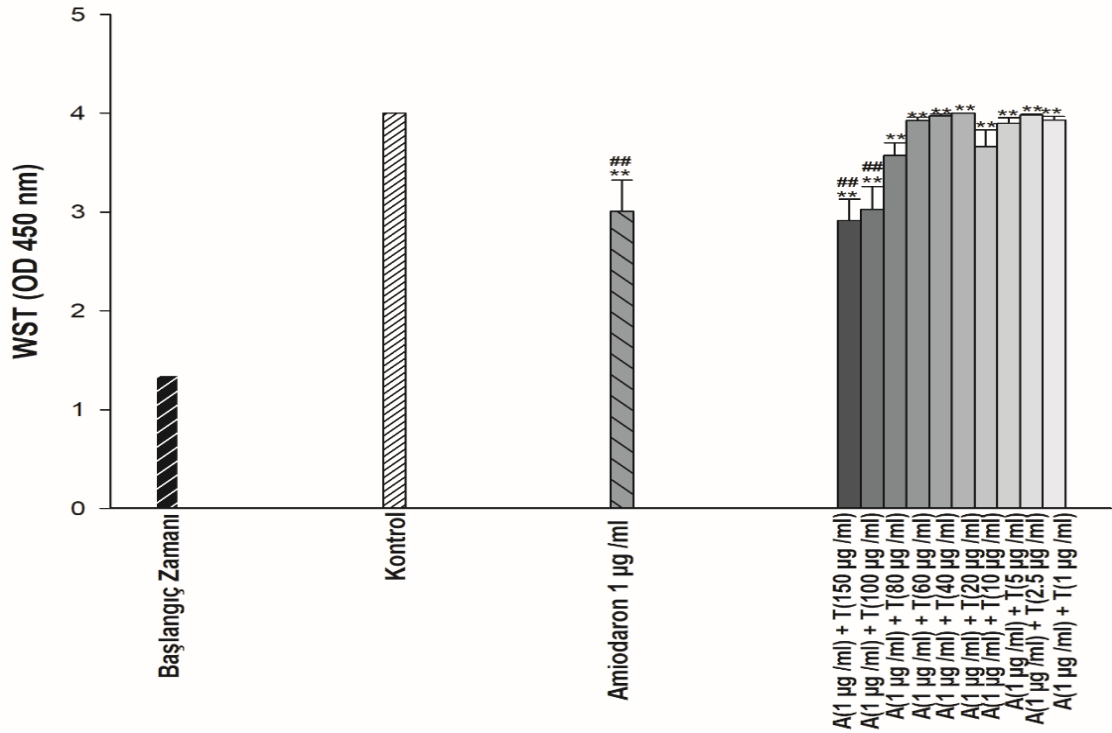
4.4.3. Amiodaron ve trastuzumab kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin WST-8 testi ile gösterilmesi

Kombinasyon çalışmasında Trastuzumab için; 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml, amiodaron için ise 5, 2.5, 1 µg /ml dozlar belirlendi. Kombinasyonun HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkileri 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde incelendi. İstatistik programından elde edilen veriler kullanılarak grafikleri çizildi.

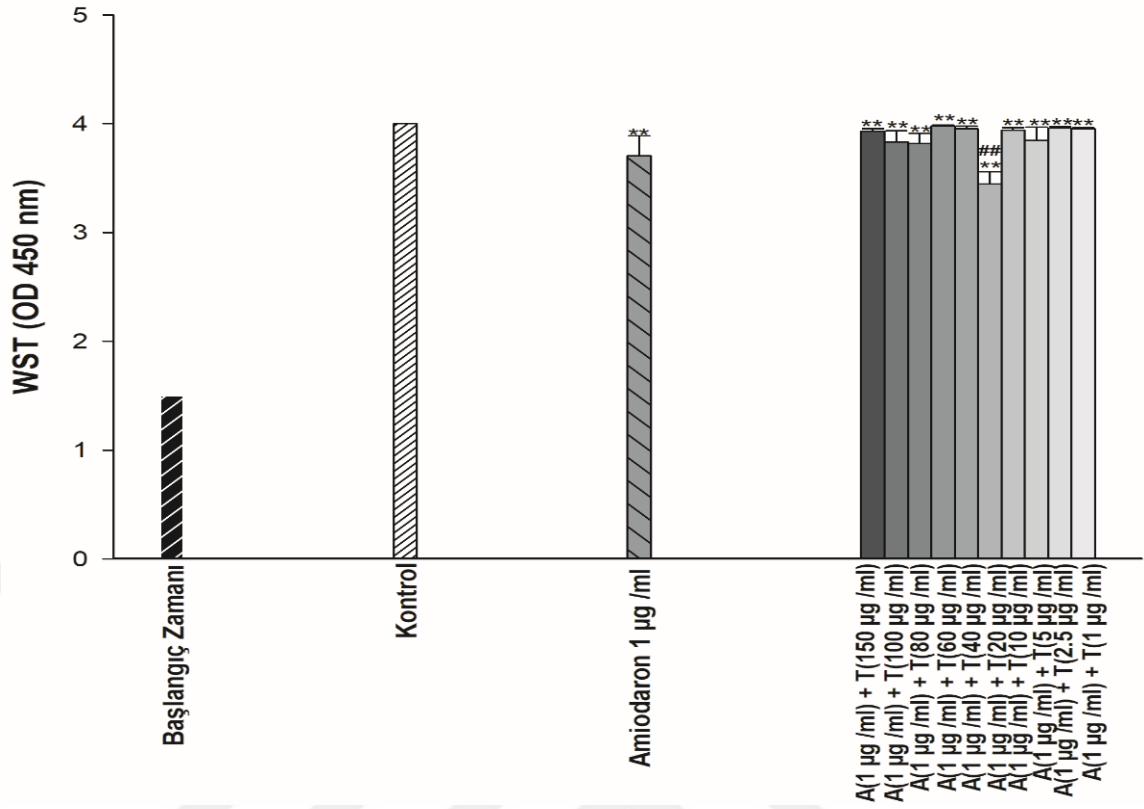
HUVEC hücrelerinde amiodaronun 1 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150 ve 100 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 20 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.79, 4.80, 4.81)



Şekil 4.79. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

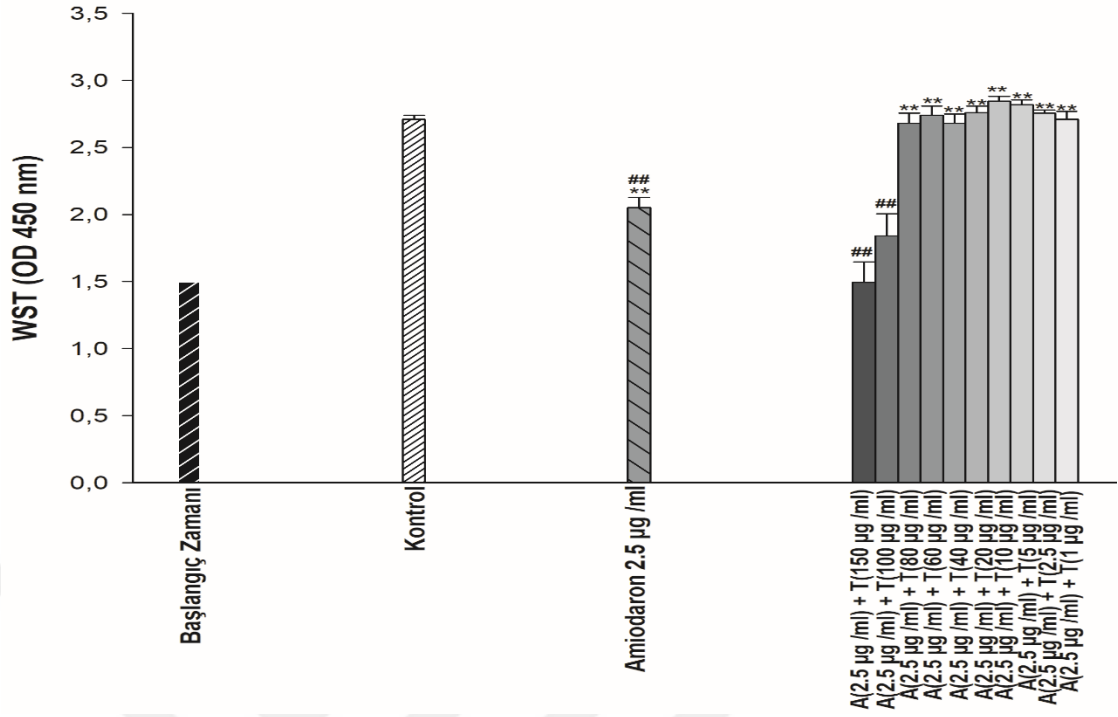


Şekil 4.80. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

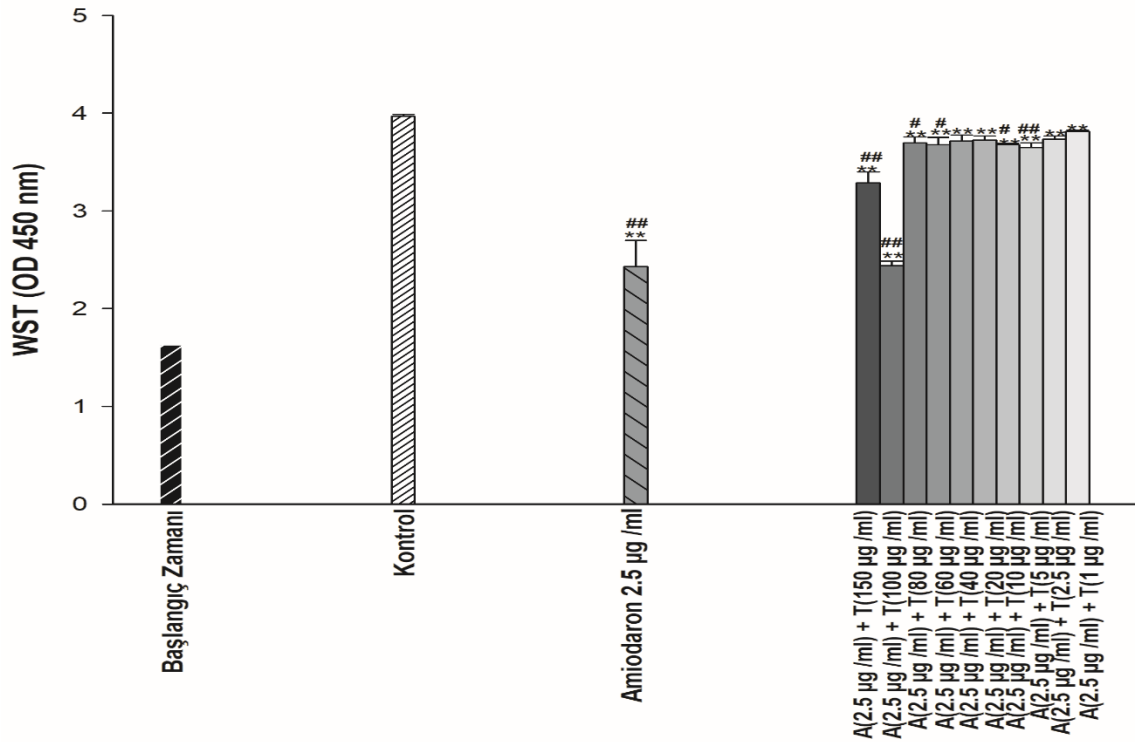


Şekil 4.81. Amiodaron 1 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

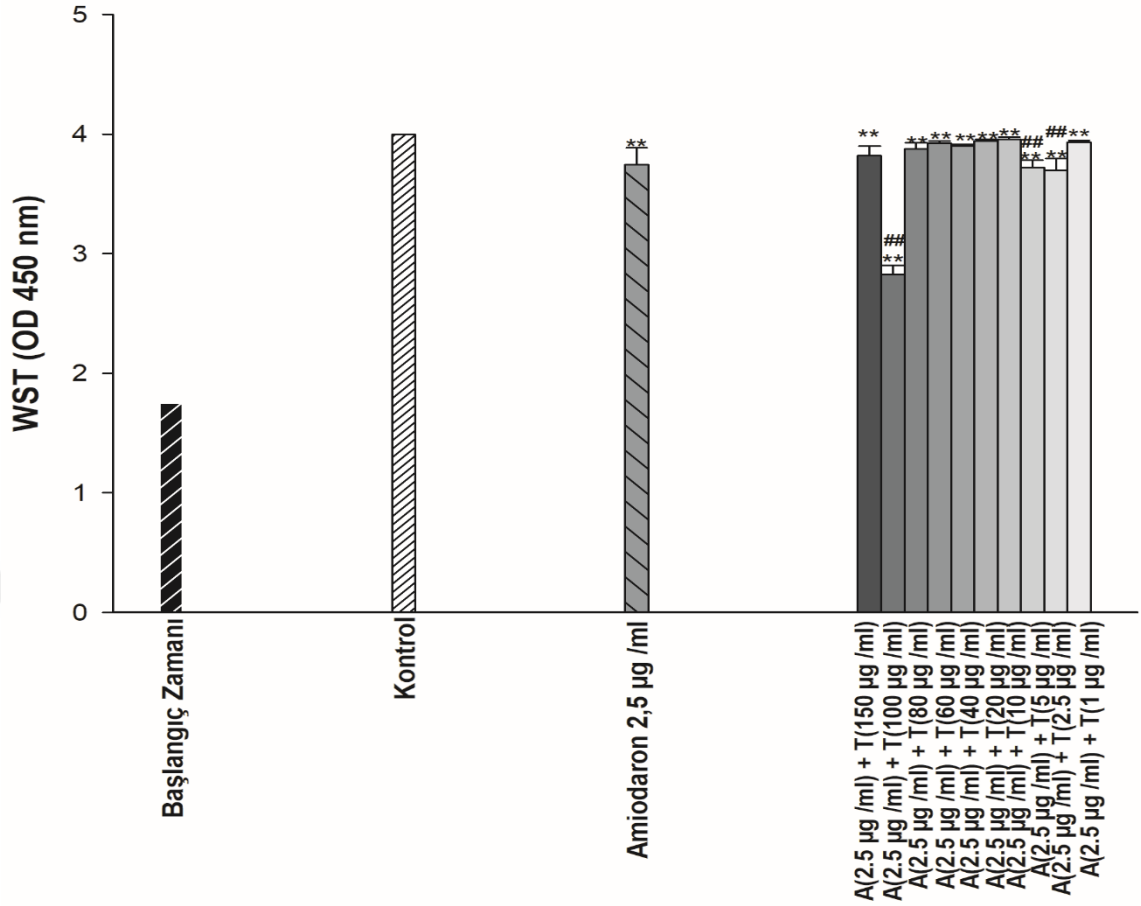
HUVEC hücrelerinde amiodaronun 2,5 µg/ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150 ve 100 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 60, 5 ve 10 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 100, 2,5 ve 5 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.82, 4.83, 4.84).



Şekil 4.82. Amiodaron 2.5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

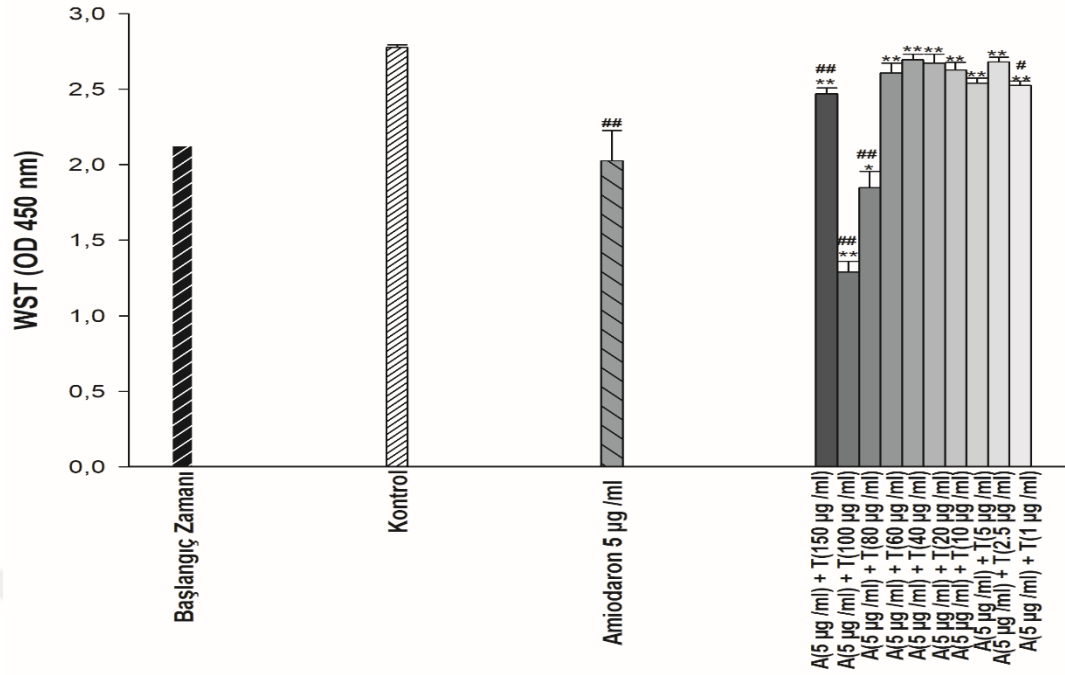


Şekil 4.83. Amiodaron 2.5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)

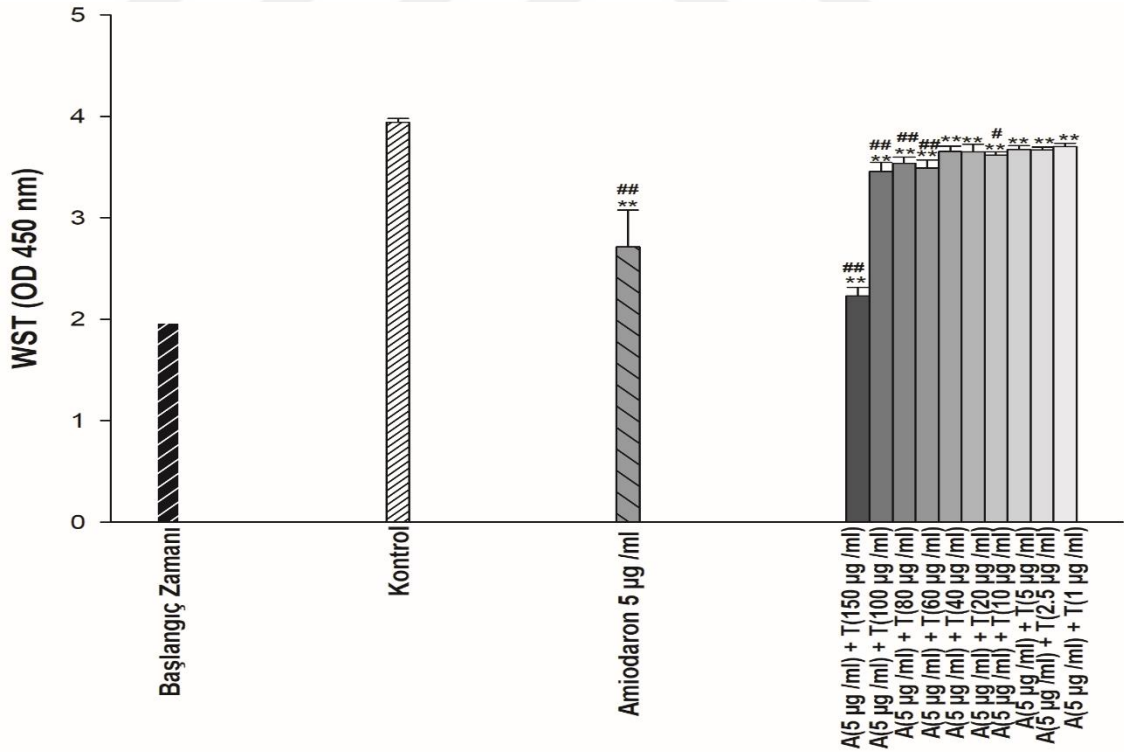


Şekil 4.84. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 150-1 µg /ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$)

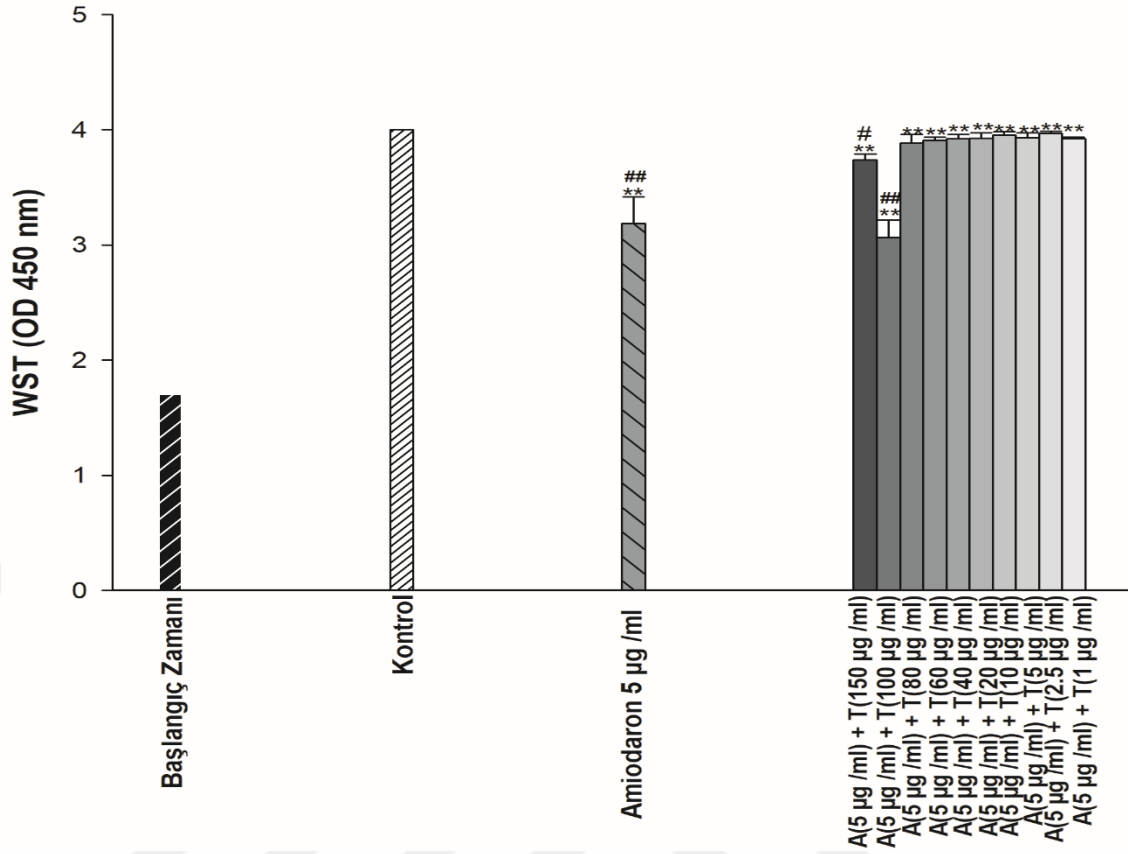
HUVEC hücrelerinde amiodaronun 5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda 24 saatlik inkübasyonda 100 ve 80 µg /ml istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmektedir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 60 ve 10 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150 ve 100 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.85, 4.86, 4.87).



Şekil 4.85. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)



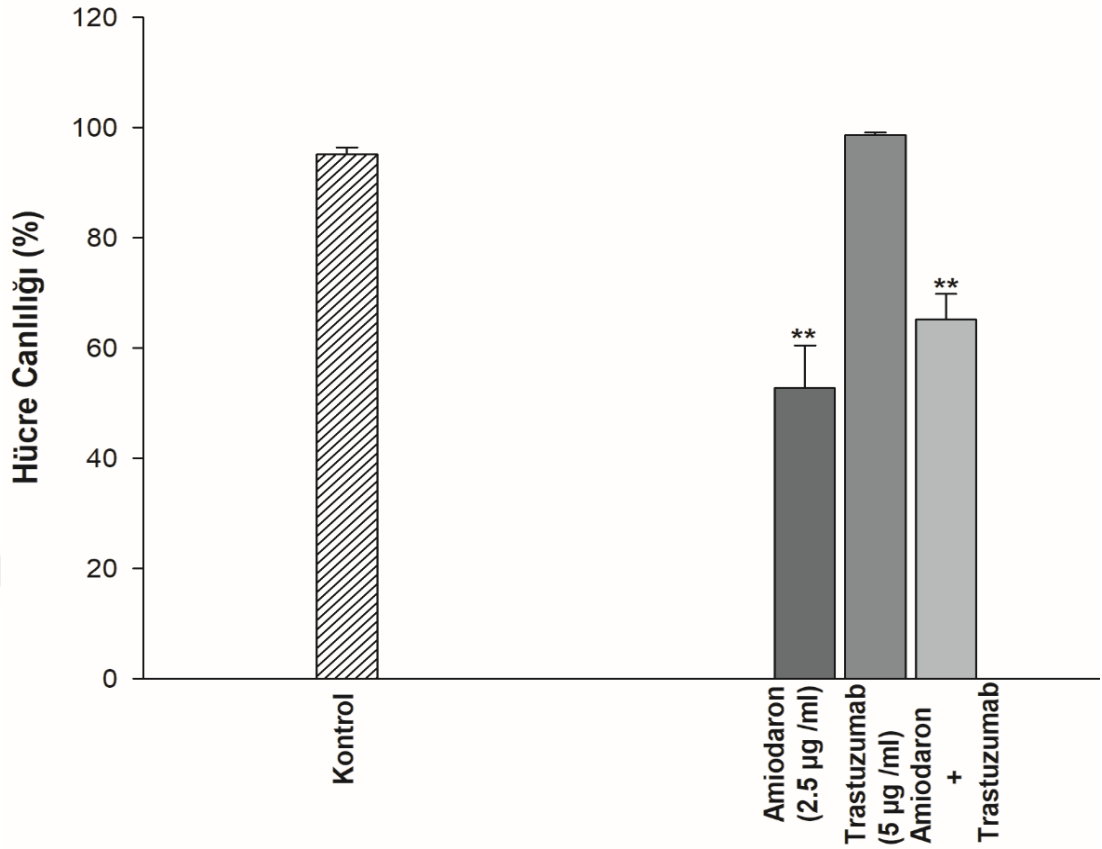
Şekil 4.86. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 48 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksisiteye etkisi (**, $p<0.01$)



Şekil 4.87. Amiodaron 5 µg/ml ve trastuzumab 150-1 µg/ml kombinasyonunun 72 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına (##, $p<0.01$; #, $p<0.05$) ve sitotoksositeye etkisi (**, $p<0.01$)

4.4.4. Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin tripan mavisi testi ile gösterilmesi

Trastuzumabın uyguladığımız dozları ve inkübasyon sürelerinde IC₅₀ değerleri olmadığı için kombinasyon uygulamasının etkili olan dozlarında ve inkübasyon süresindeki (24 saat) WST-8 testi sonuçlarını desteklemek için tripan mavisi testi kullanılmıştır. Her sayım kendi içinde tekrarlanmış olup excel programında yüzde canlılık değerleri hesaplanmıştır. Sonrasında instat istatistik programında Dunnet testi kullanılarak değerlendirilip grafiklendirilmiştir (Şekil 4.88).

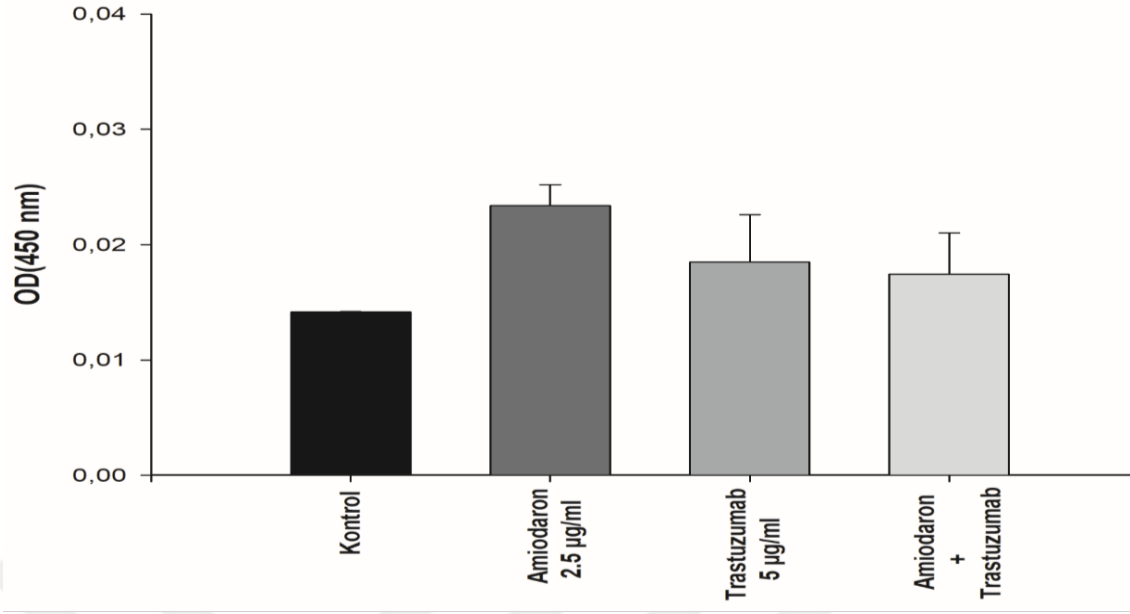


Şekil 4.88. Amiodaron 2.5 µg /ml ve trastuzumab 5 µg /ml dozlarının tek başına ve kombinasyonunun 24 saatlik inkübasyon süresinde HUVEC hücre hattındaki hücre canlılığına etkisi (**, p<0.01).

4.5 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi

MDAMB-231, MCF-7, MCF-10A VE HUVEC hücrelerinin apoptoz mekanizmasında yer alan kaspaz-3 miktarındaki değişimi Kaspaz-3 elisa kiti kullanılarak gösterilmiştir. Spektrofotometrede okuma alındıktan sonra elde edilen absorbans değerleri ilk olarak instat programında istatistiksel olarak değerlendirilip, sonrasında sigmaplot programıyla grafikleri çizildi.

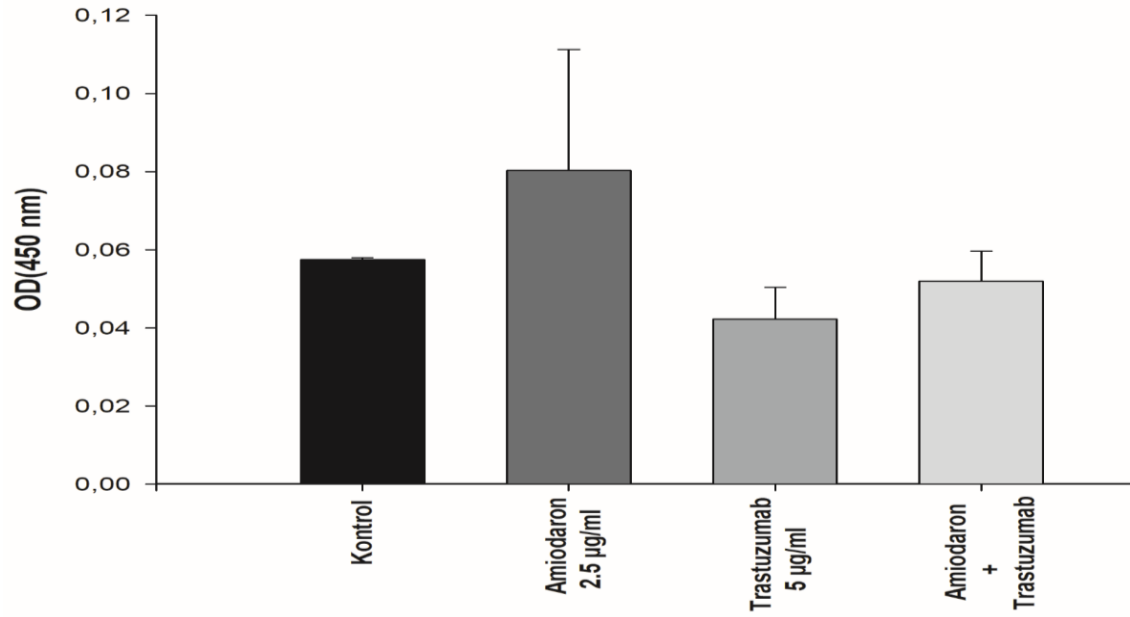
2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır. (Şekil 4.89).



Şekil 4.89. MCF-7 hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi ($p>0.05$)

4.6 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi

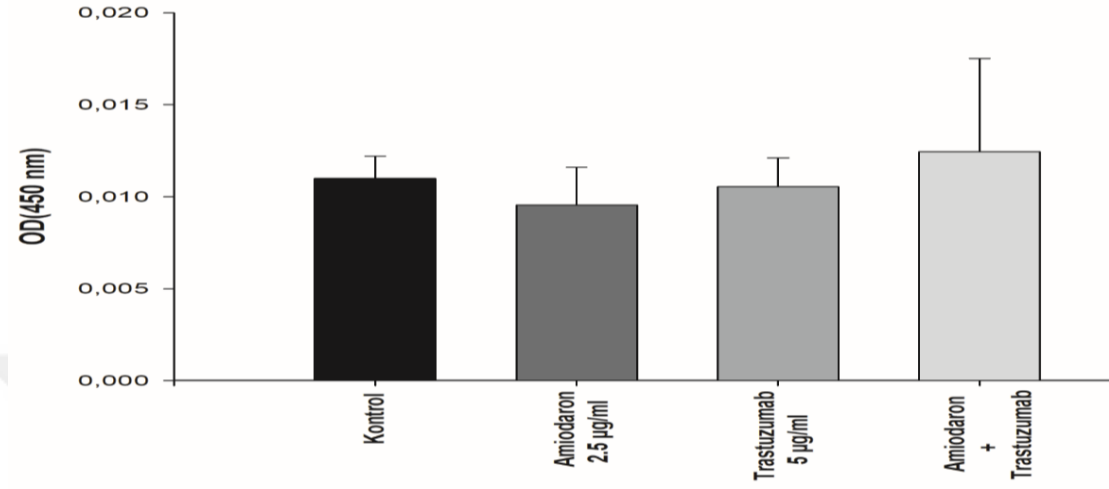
2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır (Şekil 4.90).



Şekil 4.90. MDA-MB-231 hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi ($p>0.05$)

4.7 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi

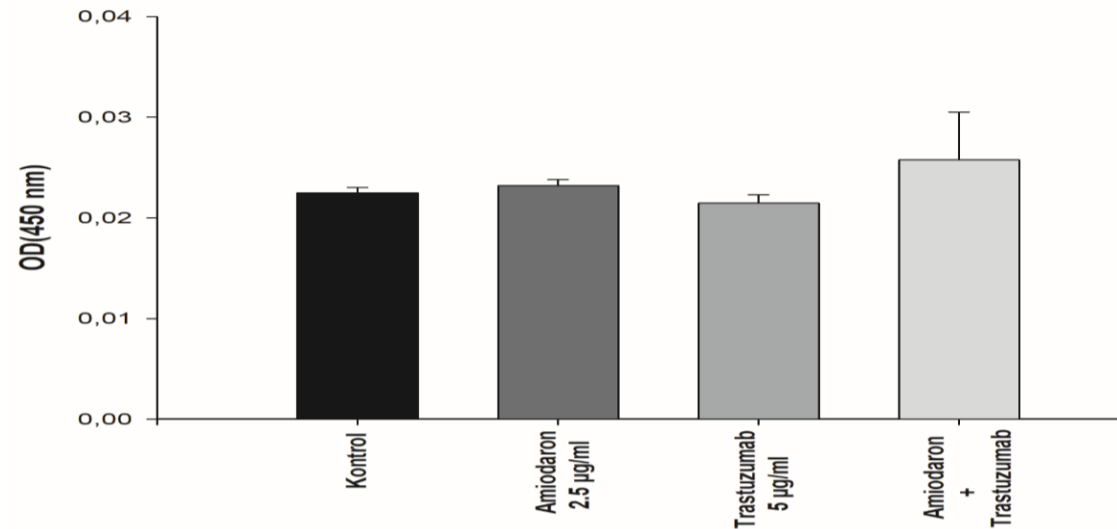
2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır (Şekil 4.91).



Şekil 4.91. MCF-10A hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi ($p>0.05$)

4.8 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki kaspaz-3 miktarının gösterilmesi

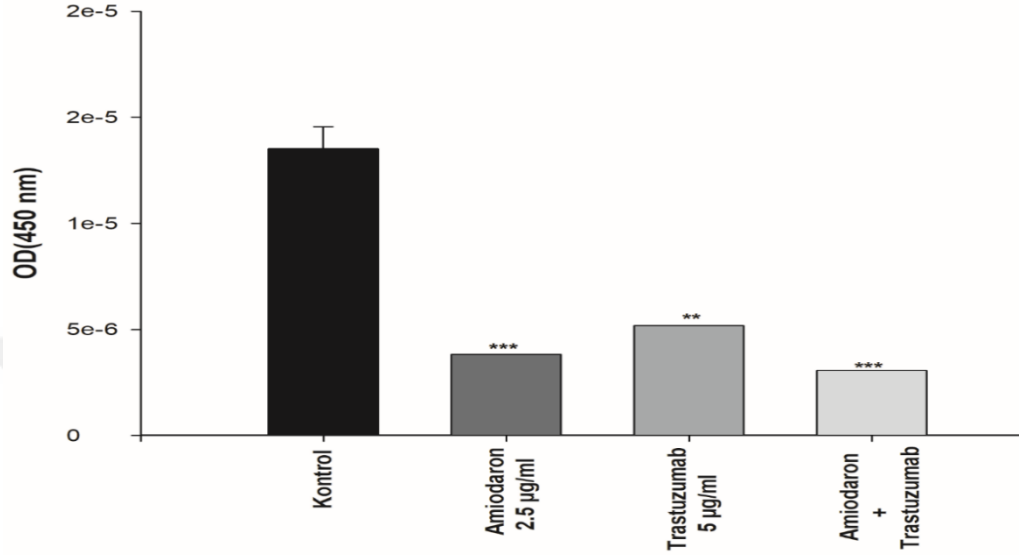
2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır (Şekil 4.92).



Şekil 4.92. HUVEC hücrelerinde 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda kaspaz-3 aktivitesine etkisi ($p>0.05$)

4.9 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-7 hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi

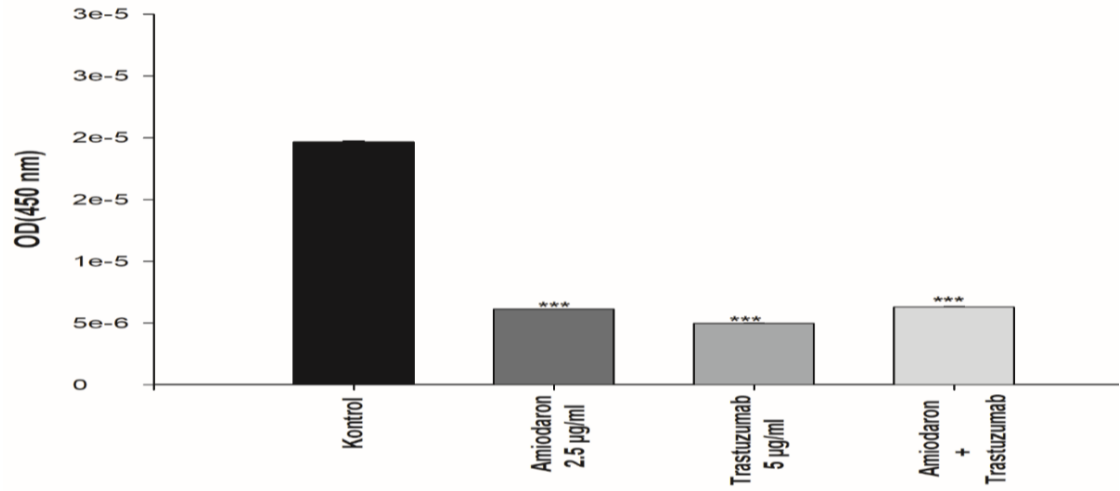
2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.93).



Şekil 4.93. 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerindeki VEGF miktarı (***, P<0.001; **, p<0,01)

4.10 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MDA-MB-231 hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi

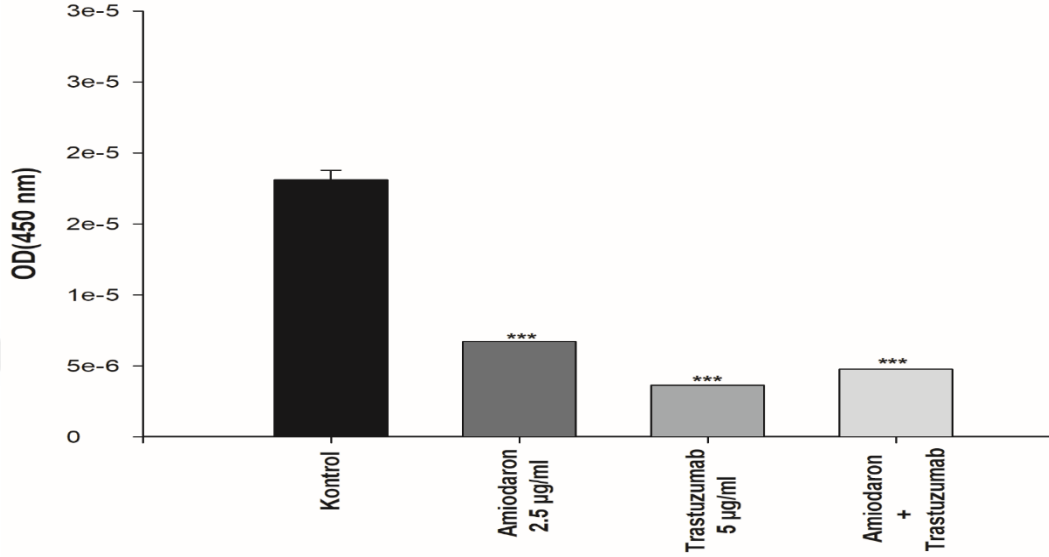
2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.94).



Şekil 4.94. 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDA-MB-231 hücrelerindeki VEGF miktarı (***, P<0.001)

4.10 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun MCF-10A hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi

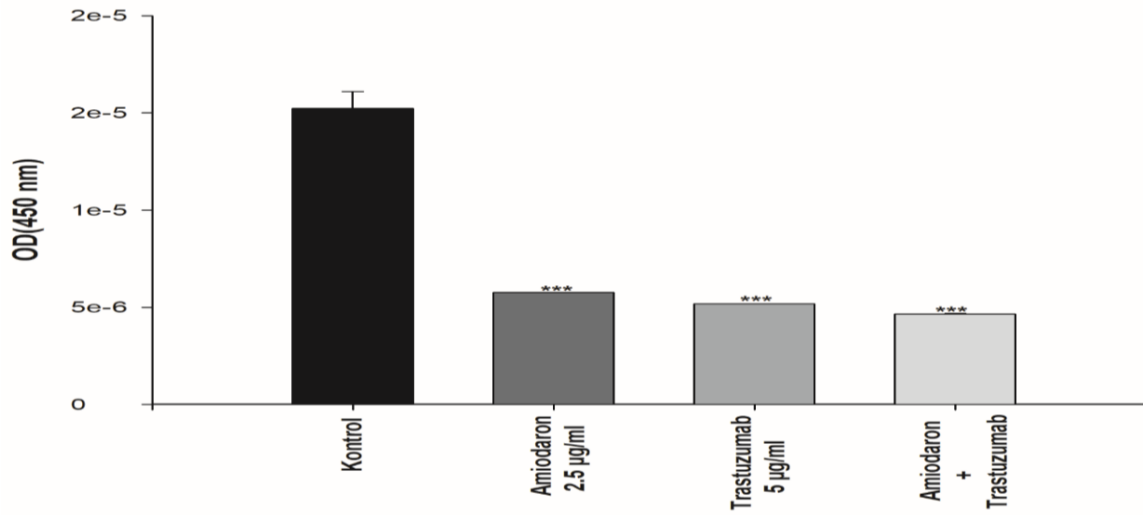
2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.95).



Şekil 4.95. 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-10A hücrelerindeki VEGF miktarı (***, P<0.001)

4.11 Amiodaron ve trastuzumabın tek başına ve kombinasyonunun HUVEC hücrelerindeki VEGF miktarının gösterilmesi

2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.96).



Şekil 4.96. 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarının 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda HUVEC hücrelerindeki VEGF miktarı (***, P<0.001)

5. TARTIŞMA

Kanser dünyada, altı ölümden birinin sebebi olup bu ölüm nedenleri arasında da ikinci sırada bulunmaktadır. Yapısal farklılık gösteren hücrelerin anormal şekilde artması ve bu hücrelerin vücuda yayılmasıyla oluşmaktadır. Tüm kanser tiplerinin ortak özellikleri vardır. Kanser dünya genelinde ciddi bir sorun olmaya devam etmektedir bu yüzden tedavisi için daha etkili yöntemlerin kullanımı zorunlu hale gelmektedir. Günümüzde kanser tedavisi için non-spesifik yöntemlerden çok spesifik yöntemler kullanılmaktadır. Cerrahi tedavi ve radyoterapi tedavisi tümörlerin yok edilmesi için etkili bir tedavi olsa da metastaz gibi nedenlerden dolayı hastalık tekrarları önemli bir sorun olmaktadır. Bu yöntemlerle kemoterapi kombinasyonu kanser tedavisinde etkili olmaktadır. Fakat kemoterapinin kanserli hücrelerin yanında sağlıklı hücrelere verdiği zararda kişiye özel ve tümöre spesifik tedavilere olan ilgiyi arttırmaktadır (Ada vd., 2021; Barbaros ve Dikmen 2015).

Hurrell ve Outhoff 'un 2013 yılında yaptığı çalışmada, Doksorubisin ve geldanamisin ile trastuzumabın kombinasyonunu SK-BR-3 ve MCF-7 meme kanseri hücre hatlarında hücre canlılığına etkisi incelenmiştir. Tek başına trastuzumab (100 µg/ml) ile tek başına doksorubisin (0.17 µM) ve trastuzumab-doksorubisin kombinasyonunun arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Uygulanan dozlarda kombinasyon, hücre canlılığını her iki hücre hattında da tek başına kullanılan dozlara göre daha fazla azalttığı belirlenmiştir (Hurrell ve Outhoff, 2013).

Çalışmamızda, MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 2.5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 2.5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın sadece 150 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.

Merlin vd. 2002' de yaptıkları çalışmada, trastuzumabın paklitaksel ve docetaxel ile kombinasyon etkisi MCF-7, MDA-MB-453 ve SK-BR3 meme kanseri hücre hatlarında incelenmiştir. Kullanılan konsantrasyon aralığında (0,7–338 nmol/l) hiçbir hücre hattında trastuzumabın IC50 değerine ulaşılabilmiştir. Trastuzumab sitotoksitesi, sırasıyla MCF-7, MDA-MB-453 ve SK-BR3 hücre hatlarında 0,7 nmol/l'de %2, %3 ve %19 oranında hücre ölümüne ve kullanılan maksimum konsantrasyonda ise (338 nmol/l) %10, %16 ve %30 oranında hücre ölümüne neden olmuştur. MCF-7 hücrelerinde, her iki ilacın trastuzumab ile kombinasyonu sinerjik etkileşim göstermiştir. MDA-MB-453 hücrelerinde, sadece paklitaksel trastuzumab ile sinerjistik etkileşimler sağlarken, docetaxel aditif etkileşim göstermiştir. SK-BR3 hücrelerinde ise her iki ilacın kombinasyonunda da aditif etkileşim göstermiştir (Merlin vd., 2002).

Yaptığımız çalışmada trastuzumabın tek başına 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml dozlarında 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde MCF-7 hücre hattındaki sitotoksik etkileri incelenmiştir. Trastuzumab, MCF-7 hücrelerinde 24, 48 ve

72 saatlik inkübasyon süresi sonunda uygulanan dozlarda sitotoksik ve antiproliferatif olmayıp IC50 değerine ulaşamamıştır.

Meme kanserinde aşırı eksprese edilen HER2'yi hedef alan ilk monoklonal antikor trastuzumabdır. Trastuzumabın meme kanseri hastalarında sağkalımı arttırdığı gösterilmesine rağmen, kardiyotoksisitenin de içinde bulunduğu bir dizi yan etkiye neden olmaktadır. Kardiyotoksisite, kanser tedavisi sırasında kalbin kasılma fonksiyonunda meydana gelen bir azalma olarak tanımlanmaktadır. Trastuzumabın kardiyotoksisiteye neden olduğu mekanizma halen tam açıklanamamakla beraber aslında trastuzumabın normal kardiyak büyüme ve idame için gerekli olan neuregulin işlevini de bloke etmesi de bu yan etkiye sebep olabilmektedir. Uzun vadeli sonuçlar elde etmek ve yaşam kalitesini arttırmak için, kanser tedavisinden beklenen faydalar ile tedavi ve hastaya özgü kardiyovasküler hastalık riski arasındaki dengeyi kurmak ve kardiyotoksisiteyi önleyecek stratejileri belirlemek gerekmektedir. Kardiyotoksik yan etkiye neden olan kanser tedavisiyle ilişkili kardiyovasküler bozukluklar konusunda farkındalığı artırmak ve meme kanseri tanısı almış olan hastalar için kardiyolojik bakıma yönelik yeni disiplinler arası yaklaşımlara katkıda bulunulmalıdır (Méndez-Valdés vd., 2023; Mirakhmedov, 2023; Chianca vd., 2023)

Abo-Zeid ve arkadaşları 2019 yılında yaptıkları çalışmada MCF-7 ve MDAMB-231 hücre hatlarında trastuzumabın sitotoksik etkisini incelemişlerdir. Sonuçlarına göre MCF-7 hücreleri için, IC50 değerleri sırasıyla 6, 12, 24 ve 48 saat inkübasyon sürelerine göre 31.65, 21.08, 17.53 ila 11.97 µg/ml aralığında olup bu değerler MDA-MB-231 hücre hattı için biraz daha yüksektir ve IC50 değerleri aynı zaman aralıklarında sırasıyla 32.09, 29.07, 26.16 ve 16.64 µg/ml doz aralığındadır. Trastuzumab tüm zaman aralıklarında düşük konsantrasyonlarda (1.25 ve 5 µg/ml) MCF-7 veya MDA-MB-231 hücreleri üzerinde sitotoksik etki oluşturmamıştır ancak daha yüksek konsantrasyonlarda (10 ve 20 µg/ml) daha yüksek sitotoksik etkiler yaratmıştır. Apoptoz yoluyla ortalama hücre ölüm yüzdeleri, her iki hücre hattında trastuzumabın yüksek konsantrasyonunda önemli ölçüde artmıştır. Kaspaz-3 miktarı, trastuzumab ile tedavi edilen kanser hücresinde, tedavi edilmeyen hücrelere göre aşırı eksprese edildiği görülmüştür. Yüksek konsantrasyonlarda trastuzumab sitotoksisiteyi, kaspaz-3 protein ekspresyonunu ve MCF-7 ve MDA-MB-231 hücrelerinin DNA hasarını arttırdığı ve sonuç olarak apoptotik hücre ölümünü önemli ölçüde neden olduğu bulunmuştur. (Abo-Zeid vd., 2019).

Yaptığımız çalışmada trastuzumabın tek başına 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5, 1 µg /ml dozlarında 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde MDA-MB-231 hücre hattındaki sitotoksik etkileri incelenmiştir. Trastuzumab, MDA-MB-231 hücrelerinde 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresinde uygulanan doz aralığında sitotoksik etki ve 24, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda antiproliferatif etki göstermemiş olup 72 saatlik inkübasyon süresinde 150 ve 100 µg /ml dozlarda ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur. Yapılan kaspaz-3 çalışmasında ise tüm hücre hatlarında 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab tek başına ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olmamaktadır.

İyon kanalları, kanser hücrelerinin patofizyolojisinde anahtar bir rol oynamaktadır. Hücre ozmolaritesinin ve membran potansiyelinin korunması, sinyal iletimi, transkripsiyonel aktivite ve hücre döngüsü ilerlemesi gibi çeşitli faktörlere katkıda bulunarak tümör ilerlemesine ve metastazına neden olmaktadır. Bu özelliğinden

dolayı iyon kanalları kanser tedavisi için umut verici hedef haline gelmektedir. İyon kanallarının birçoğu plazma zarında eksprese edilmektedir ve çeşitli inhibitörleri diğer endikasyonlar için klinikte kullanılmaktadır. Mevcut olan ve yeni Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve Cl^- kanal inhibitörleri, tek başına veya kombinasyon halinde, kanser hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve istilasını baskılamakta ve ayrıca apoptozu artırarak tümör büyümesinin ve metastazın baskılanmasına yol açmaktadır. İyon kanallarının hedeflenmesi, kanser tedavisi için uygun avantajlar sunmaktadır. Fakat bununla yanı sıra iyon kanalları aynı zamanda uyarılabilir ve uyarılamaz hücrelerde farklı fizyolojik roller sergilemektedir. Bundan dolayı kanal hedefleme farklı yan etkilere neden olabilmektedir (Capatina vd., 2020; Arcangeli ve Becchetti, 2010).

Payne vd. 2022'de yaptıkları çalışmada MDA-MB-231, MDA-MB-468 , BT-20 hücre hatlarıyla HEK293T ve MCFA10 epitel hücre hatlarının iyon kanal ekspresyonları belirlenmiştir. Daha sonra MDA-MB-231, MDA-MB-468 hücre hatlarında potasyum iyon kanal blokeri olan amiodaron, karvedilol , imipramin ve tioridazinin çeşitli konsantrasyonlarda (0.001, 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ve 1000 μM) sitotoksik etkileri incelenmiştir. Tüm ilaçlar düşük mikromolar aralıkta IC_{50} değerlerinde önemli hücre ölümüne neden olmuştur. Amiodaron için bu değerler 5 ve 10 μM seçilmiştir. MDA-MB-231 ve MDA-MB-468 hücre hatlarında 5-10 μM 'de amiodaron ile tedavisi sonucu, her iki konsantrasyonda MDA-MB-231 hücreleri için ve 10 μM 'da MDA-MB-468 hücreleri için 2B hücre göçünde önemli bir azalma ile sonuçlanmıştır. (Payne vd., 2022).

Amiodaron, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur. Ayrıca 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur. Amiodaron, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MDA-MB-231 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 24, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 150-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.

Atriyal fibrilasyon (AF) en sık görülen kardiyak aritmidir ve önemli kardiyovasküler morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Amiodaron atriyal fibrilasyona sahip olan hastalarda sinüs ritmini sürdürmek için en sık kullanılan ajandır. Kanser hastalarının atriyal fibrilasyon riski, hasta olmayanlara göre %47 daha fazladır. Ayrıca AF'si olan hastalarda ise kanser olma riskinin arttığı da rapor edilmiş olup dolayısıyla bu ilişki çift yönlü olabilmektedir. Atriyal fibrilasyona zemin hazırlayan önemli bir faktör ise kadın cinsiyetidir. Kadınlarda en sık görülen kanser türü olan meme kanserinde artmış kardiyovasküler hastalık riski mevcuttur. Ayrıca, kanserin doğrudan etkileri ve iki hastalık arasındaki ortak risk faktörlerinin yanı sıra, AF ve meme kanseri arasındaki ilişki de kanser tedavisinin olumsuz etkileri de yer almaktadır (Singh, 2008; Mauro vd., 2022; Madnick ve Fradley, 2022).

Szabo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada mitokondriyal $\text{Kv}1.3$ potasyum (K^+) kanalının, lenfositlerde Bax kaynaklı apoptozun düzenlenmesinde rol oynadığını göstermişlerdir (20).

Klinik öncesi yapılan çalışmalarda, amiodaron'un birçok kanser türünde ilaç direncini tersine çevirebildiği ve hem tek bir ajan olarak hem de farklı kanser ilaçları ile kombine halde sitotoksik etkiler sergilediği gösterilmiştir. Bu durum amiodaron'u kanser tedavisi için potansiyel bir aday haline de getirmektedir.

Potasyum kanallarını hedefleyen ilaçlar ile kemoterapötik ilaçlar ve bu ilaçların kombinasyonu, daha yüksek antitümör etkiye sahip olabilir. Bu nedenden dolayı potasyum kanallarının hedeflenmesi ilaç direncinin ortadan kaldırılmasına ve terapötik etkinliğin artırılmasına yardımcı olmaktadır. Kombinasyon tedavisi ise kemoterapötik ajanların ve hedeflenen ilaçların dozunu azaltmada etkilidir bundan dolayı da ilaçların toksisitesini azaltabilmektedir. Böylelikle potasyum kanal blokerlerinin kombinasyon tedavisi de tümörlerin klinik tedavisinde umut verici bir yaklaşım haline gelmektedir (Xia vd., 2023).

Steinberg ve arkadaşlarını yaptıkları bir çalışmada U-87 ve HUVEC hücre hattında 24 veya 72 saatlik inkübasyon süresinde amiodaronun sitotoksik ve proliferasyon hızı etkilerini araştırmışlardır. Amiodaron, in vitro deneylerde kullanılan en yüksek konsantrasyon olan 50 μM ile daha az sitotoksik bir etki oluşturmuş ve 24 saat sonra hücrelerin canlılığını %28 azaltmıştır. 72 saatlik inkübasyon süresinde ise 10 ve 50 μM tedavileri sırasıyla %18 ve %56 azalmaya yol açmıştır. Ayrıca amiodaron'un doza bağlı bir şekilde, esas olarak nekroz yoluyla hücre canlılığını azaltma etkisi olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Huvec için ise amiodaronun kullanılan tüm konsantrasyonlarda (0,1 – 10 μM) sitotoksik etkilere neden olurken, 10 μM , hücre canlılığında %32'lik bir azalmaya yol açtığı görülmüştür. (Steinberg vd., 2020).

Amiodaron, 24 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda HUVEC hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150, 100, 80, 60, 40, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında, 48 saatlik inkübasyon süresinde 150-2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında, 72 saatlik inkübasyon süresi sonundaysa 150-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.

MCF-10A hücrelerinde ise amiodaron, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.

6. SONUÇLAR

Verilerden elde edilen sonuçlara aşağıda yer verilmiştir:

1. Amiodaron, 24 saat inkübasyon süresinin ardından MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20 µg/ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 µg/ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur
2. Amiodaron, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20 µg/ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 µg/ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.
3. Amiodaron, 72 saat inkübasyon süresi sonunda MCF-7 hücrelerin de 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg/ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-10 µg/ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.
4. Trastuzumab 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10, 5, 2.5 ve 1 µg/ml dozlarında hiçbir hücre hattında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir.
5. MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 1 µg/ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın sadece 100 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır
6. MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 2.5 µg/ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 5 ve 1 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 2.5 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın sadece 150 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
7. MCF-7 hücrelerinde amiodaronun 5 µg/ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 ve 40 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg/ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
8. Amiodaron, 24,48 ve 72 saat inkübasyon süresi sonunda MDA-MB-231 hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg/ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 24, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda

- 150-10 µg /ml doz aralığında, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 150-5 µg /ml doz aralığında antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.
9. Trastuzumab, 24,48 ve 72 saat inkübasyon süresi sonunda MDA-MB-231 hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir, 24, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda antiproliferatif etki göstermemiş olup 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-100 µg /ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.
 10. MDA-MB-231 hücrelerinde amiodaronun 1 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 100 µg /ml dozuyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
 11. MDA-MB-231 hücrelerinde amiodaronun 2.5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 100, 80 ve 5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 10 ve 2.5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
 12. MDA-MB-231 hücrelerinde amiodaronun 5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 80 µg /ml dozuyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
 13. 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında kaspaz miktarında istatistiksel olarak hiçbir hücre hattında anlamlı bir artış olmamaktadır.
 14. 2.5 µg /ml amiodaron, 5 µg /ml trastuzumab ve kombinasyonlarında VEGF miktarı bütün hücre hatlarında istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlenmiştir.
 15. Amiodaron, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda MCF-10A hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 150-5 µg /ml doz aralığında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.
 16. Trastuzumab, 24,48 ve 72 saat inkübasyon süresinin ardından MCF-10A hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda antiproliferatif etki göstermemiş olup 48, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150 µg /ml dozunda ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.

17. MCF-10A hücrelerinde amiodaronun 1 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 80 µg /ml dozuyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 40, 5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 100, 80, 60, 5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
18. MCF-10A hücrelerinde amiodaronun 2,5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100 ve 2.5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığında olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 100, 80 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
19. MCF-10A hücrelerinde amiodaronun 5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 60, 20, 10, 5, 2.5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150-1 µg /ml doz aralığında olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150, 5, 2.5 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
20. Amiodaron, 24 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda HUVEC hücrelerinde 150, 100, 80, 60, 40, 20, 10 µg /ml dozlarında, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150, 100, 80, 60, 40, 20 µg /ml dozlarında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermiştir ve 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-10 µg /ml doz aralığında, 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150-2.5 µg /ml doz aralığında, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise 150-5 µg /ml doz aralığında antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.
21. Trastuzumab, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda HUVEC hücrelerinde uygulanan doz aralığında istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki göstermemiştir ve 24, 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda antiproliferatif etki göstermemiş olup 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda 150, 100, 80, 60, 2.5 µg /ml dozlarında ise antiproliferatif etkiye sebep olmuştur.
22. HUVEC hücrelerinde amiodaronun 1 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150 ve 100 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise

trastuzumabın 20 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.

23. HUVEC hücrelerinde amiodaronun 2,5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda hiçbir dozda istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmemiş olup 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150 ve 100 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 60, 5 ve 10 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 100, 2,5 ve 5 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.
24. HUVEC hücrelerinde amiodaronun 5 µg /ml olduğu kombinasyonlarda 24 saatlik inkübasyonda 100 ve 80 µg /ml istatistiksel olarak önemli sitotoksik etki görülmektedir. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80 ve 1 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda trastuzumabın 150, 100, 80, 60 ve 10 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır. 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda ise trastuzumabın 150 ve 100 µg /ml dozlarıyla olan kombinasyonunda hücre canlılığında istatistiksel olarak azalmaya sebep olmaktadır.

7. KAYNAKLAR

- Abo-Zeid, M. A., Abo-Elfadl, M. T., and Gamal-Eldeen, A. M. 2019. Trastuzumab augments apoptotic cell death of MCF-7 and MDA-MB-231 breast Cancer cell lines. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(2): 324-330.
- Ada, S., Ertürk, C., Uçar, A., Akyüz, S., Doğan, F., ve Yücel, B. 2021. Kanser Hücre Metabolizması. *Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı Dergisi*, 4(3): 66-75.
- Akay, A., Sümer-Turanlıgil, C., ve Uyanıkgil, Y. 2010. İyon kanalları ve epilepsi patojenezindeki rolleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 19(2): 72-84
- Akyolcu, N., Özhanlı, Y., ve Kandemir, D. 2020. Recent Developments in Breast Cancer. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*, 6(3), 583-594.
- Aliustaoğlu, M. 2009. Temel kanser fizyopatolojisi. *Klinik Gelişim*, 22(3): 46-49.
- Al-Ostoot, F. H., Salah, S., Khamees, H. A., and Khanum, S. A. 2021. Tumor angiogenesis: Current challenges and therapeutic opportunities. *Cancer Treatment and Research Communications* (C. 28).
- Arcangeli, A., and Becchetti, A. 2010. New trends in cancer therapy: targeting ion channels and transporters. *Pharmaceuticals*, 3(4), 1202-1224.
- Babacan, D. 2023. Apoptozis. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 49(1): 1-10.
- Barbaros, M. B., ve Dikmen, M. 2015. Kanser immünoterapisi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 31(4): 177-182.
- Barton, A. K., McGowan, M., Smyth, A., Wright, G. A., and Gardner, R. S. 2020. Classification and choice of antiarrhythmic therapies. *Prescriber*, 31(3), 11-17.
- Baykara, O. 2016. Current Modalities in Treatment of Cancer. *Balıkesir Health Sciences Journal*, 5(3), 154-165.
- Bedard, P. L., Cardoso, F., and Piccart-Gebhart, M. J. 2009. Stemming resistance to HER-2 targeted therapy. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, 14(1): 55-66.
- Berzingi, S., Newman, M., & Yu, H. G. 2016. Altering bioelectricity on inhibition of human breast cancer cells. *Cancer Cell International*, 16(1).
- Bildik, A., ve Bayar, İ. 2018. Inhibition of Apoptotic Pathways in Cancer. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences*, 9(2), 42-51.
- Boekhout, A. H., Beijnen, J. H., and Schellens, J. H. M. 2011. Trastuzumab. *The Oncologist*, 16(6), 800-810.
- Brackenbury, W. J. 2016. Ion Channels in Cancer. İçinde *Ion Channels in Health and Disease* (131-163).

- Brown, B. M., Shim, H., Christophersen, P., and Wulff, H. 2019. Pharmacology of Small-and Intermediate-Conductance Calcium-Activated Potassium Channels. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*.
- Capatina, A. L., Lagos, D., and Brackenbury, W. J. 2020. Targeting ion channels for cancer treatment: current progress and future challenges. *Targets of Cancer Diagnosis and Treatment: Ion Transport in Tumor Biology*, 1-43.
- Carneiro, B. A., and El-Deiry, W. S. 2020. Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 17(7): 395-417.
- Celepli, S., Bigat, İ., Celepli, P., ve Karagin, P. H. 2020. Apoptoz ve apoptotik yolların gözden geçirilmesi. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 24: 103-111.
- Chianca, M., L'Abbate, S., Fabiani, I., Aimo, A., Emdin, M., Passino, C., and Cardinale, D. M. 2023. Clinical management of drug-induced cardiotoxicity in patients with HER-2+ breast cancer: current recommendations and future outlook. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 19(2), 109-119.
- Chow, M. S., Monsanto, H. A., and Plante, M. 1996. Intravenous amiodarone: pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use. *Annals of Pharmacotherapy*, 30(6): 637-643.
- Chu, E., and Sartorelli, A. C. 2004. Cancer chemotherapy. *Basic & clinical pharmacology*, 9: 898-930
- Comes, N., Serrano-Albarras, A., Capera, J., Serrano-Novillo, C., Condom, E., y Cajal, S. R., and Felipe, A. 2015. Involvement of potassium channels in the progression of cancer to a more malignant phenotype. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(10): 2477-2492.
- Comşa, Ş., Cimpean, A. M., and Raica, M. 2015. The story of MCF-7 breast cancer cell line: 40 years of experience in research. *Anticancer research*, 35(6): 3147-3154.
- Coşan, D. T., Öner, Ç., Soyocak, A., Metcalfe, E., and Djamgoz, M. 2017. Meme kanserinde Kv 1.3 ve Kv 10.1 voltaj bağımlı potasyum kanallarının inhibisyonunun oksidatif stres üzerindeki rolü. *Dicle Tıp Dergisi*, 44(1): 43-43.
- Coşkun, G., ve Özgür, H. 2011. Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 20(3): 145-158.
- Çıtlak, K., ve Kapucu, S. 2015. Kemoterapi alan hastalarda görülen oral mukozitin önlemesi ve tedavisinde güncel yaklaşımlar: kanıta dayalı uygulamalar. *Hacettepe Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Dergisi*, 2(1): 70-77.
- Dağdeviren, T. 2021. Programlı Hücre Ölümü; Apoptoz. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 13(3): 120-135.
- D'Arcy, M. S. 2019. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *İçinde Cell Biology International*, 43(6): 582-592.

- Deniz, E. B. 2022. Kanser Epidemiyolojisi. *Turkey Health Literacy Journal*, 3(2): 102-111.
- Demirelli, F. H. 2005. Hedefe yönelik kanser tedavisi ve monoklonal antikorlar. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği (ANKEM) Dergisi*, 19: 123-125.
- Demirer, E., Ayten, Ö., ve Taş, D. 2014. Anjiyogenez ve Anti-Anjiyogenik Tedaviler. İçinde *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 5(1): 75-79.
- Emre, M. 2020. Potasyum İyon Kanallarının Yapısı ve Genel Özellikleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29(4): 276-290.
- Erdoğan, M. A. 2018. Ion channels and cancer. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine*, 4(1), 49-62.
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., and Bray, F. 2021. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*, 149(4): 778-789.
- Fitzgerald, R. C., Antoniou, A. C., Fruk, L., and Rosenfeld, N. 2022. The future of early cancer detection. *Nature medicine*, 28(4): 666-677
- Gadaleta, E., Thorn, G. J., Ross-Adams, H., Jones, L. J., and Chelala, C. 2022. Field cancerization in breast cancer. *The Journal of Pathology*, 257(4): 561-574
- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S. A., Abrams, J. M., Adam, D., Agostinis, P., ... and Turk, B. 2018. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death & Differentiation*, 25(3): 486-541.
- Ganser, K., Klumpp, L., Bischof, H., Lukowski, R., Eckert, F., and Huber, S. M. 2021. Potassium Channels in Cancer. İçinde *Handbook of Experimental Pharmacology*, 267: 253-275.
- Grizel, A. V., Glukhov, G. S., and Sokolova, O. 2014. Mechanisms of activation of voltage-gated potassium channels. *Acta Naturae*, 6(4): 10-26.
- Günel, T., Çelik, H. G., Küçükkaya, R. D., Alkaç, İ. M., ve Aydın, K. 2020. İnsan Hastalıklarında Endotel Fonksiyon ve ID Disfonksiyonunun Moleküler Mekanizmaları. *Medical Journal of Istanbul Kanuni Sultan Süleyman/İstanbul Kanuni Sultan Süleyman Tıp Dergisi*, 12(3).
- Ha, H. R., Bigler, L., Wendt, B., Maggiorini, M., and Follath, F. 2005. Identification and quantitation of novel metabolites of amiodarone in plasma of treated patients. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24(4): 271-279.
- Hamilton, D., Nandkeolyar, S., Lan, H., Desai, P., Evans, J., Hauschild, C., Choksi, D., Abudayyeh, I., Contractor, T., and Hilliard, A. 2020. Amiodarone: A Comprehensive Guide for Clinicians. İçinde *American Journal of Cardiovascular Drugs*, 20(6): 549-558.
- Hamutoğlu, R. 2017. The role of angiogenesis in physiological and pathological conditions. *Istanbul Bilim University Florence Nightingale Transplantation Journal*, 2(2): 56-62.

- Hanahan, D., and Weinberg, R. A. 2000. The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1): 57-70
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. 2011. Hallmarks of cancer: The next generation. İçinde *Cell*, 144(5): 646-674.
- Hrudikova Vyskocilova, E., Grundmann, M., Duricova, J., and Kacirova, I. 2017. Therapeutic monitoring of amiodarone: Pharmacokinetics and evaluation of the relationship between effect and dose/concentration. İçinde *Biomedical Papers*, 161(2): 134-143.
- Hurrell, T., and Outhoff, K. 2013. Human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: which cytotoxic agent best complements trastuzumab's efficacy in vitro?. *OncoTargets and therapy*, 693-701.
- Kale, V. P., Amin, S. G., and Pandey, M. K. 2015. Targeting ion channels for cancer therapy by repurposing the approved drugs. İçinde *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 1848(10): 2747-2755.
- Kamuene, J. M., Xu, Y., and Plant, L. D. 2021. The Pharmacology of Two-Pore Domain Potassium Channels. İçinde *Handbook of Experimental Pharmacology*, 267: 417-443.
- Kartlaşmış, K., Kökbaş, U., ve Kayrın, L. 2016. Apoptozisin Biyokimyası. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(1), 52.
- Ketchum, C. J., Kucera, C., Barve, A., and Beverly, L. J. 2018. The antiarrhythmic drug, amiodarone, decreases akt activity and sensitizes human acute myeloid leukemia cells to apoptosis by ABT-263. *The American Journal of the Medical Sciences*, 355(5): 488-496.
- Kondratskyi, A., Kondratska, K., Skryma, R., and Prevarskaya, N. 2015. Ion channels in the regulation of apoptosis. İçinde *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes*, 1848(10): 2532-2546.
- Kontomanolis, E. N., Koutras, A., Syllaios, A., Schizas, D., Mastoraki, A., Garmpis, N., ... and Fasoulakis, Z. 2020. Role of oncogenes and tumor-suppressor genes in carcinogenesis: a review. *Anticancer research*, 40(11): 6009-6015.
- Konukoğlu, D., and Turhan, M. 2005. Anjiyogenezin Temel Moleküler Mekanizmaları ve Tümör Anjiyogenezi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 36(1): 42-48.
- Kozlik, P. 2003. Metabolism of amiodarone-Biotransformation of mono-N-desethylamiodarone in-vitro.
- Lang, F., and Stournaras, C. 2014. Ion channels in cancer: Future perspectives and clinical potential. İçinde *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1638).
- Lastraioli, E., Iorio, J., and Arcangeli, A. 2015. Ion channel expression as promising cancer biomarker. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(10): 2685-2702.
- Lau, K. H., Tan, A. M., and Shi, Y. 2022. New and emerging targeted therapies for advanced breast cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4): 2288.

- Leanza, L., Manago, A., Zoratti, M., Gulbins, E., and Szabo, I. 2016. Pharmacological targeting of ion channels for cancer therapy: in vivo evidences. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1863(6): 1385-1397.
- Li, M., and Xiong, Z. G. 2011. Ion channels as targets for cancer therapy. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*, 3(2): 156
- MacKinnon, R. 2003. Potassium channels. *FEBS Letters*, 555(1), 62-65.
- Madnick, D. L., and Fradley, M. G. 2022. Atrial fibrillation and cancer patients: mechanisms and management. *Current Cardiology Reports*, 24(10): 1517-1527.
- Mali, P., Henry Salzman, M. M., Vidaillet, H. J., and Rezkalla, S. H. 2014. Amiodarone Therapy for Cardiac Arrhythmias: Is It Associated with the Development of Cancers? *World Journal of Cardiovascular Diseases*, 4(3): 109-118.
- Mauro, E., Lucà, F., Tetta, C., Parise, O., Parrini, I., Parise, G., ... and Gelsomino, S. 2022. Breast Cancer and Atrial Fibrillation. *Journal of clinical medicine*, 11(5): 1417.
- Maximiano, S., Magalhaes, P., Guerreiro, M. P., and Morgado, M. 2016. Trastuzumab in the treatment of breast cancer. *BioDrugs*, 30: 75-86.
- Méndez-Valdés, G., Gómez-Hevia, F., Bragato, M. C., Lillo-Moya, J., Rojas-Solé, C., Saso, L., & Rodrigo, R. (2023). Antioxidant Protection against Trastuzumab Cardiotoxicity in Breast Cancer Therapy. *Antioxidants*, 12(2), 457.
- Merlin, J. L., Barberi-Heyob, M., and Bachmann, N. 2002. In vitro comparative evaluation of trastuzumab (Herceptin®) combined with paclitaxel (Taxol®) or docetaxel (Taxotere®) in HER2-expressing human breast cancer cell lines. *Annals of Oncology*, 13(11): 1743-1748
- Mirakhmedov, S. S. 2023. Mechanisms of Cardiotoxicity Development in Breast Cancer Chemotherapy. *EUROPEAN JOURNAL OF INNOVATION IN NONFORMAL EDUCATION*, 3(4), 138-141.
- Momenimovahed, Z., and Salehiniya, H. 2019. Epidemiological characteristics of and risk factors for breast cancer in the world. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 11: 151-164.
- Nair, M., Sandhu, S. S., and Sharma, A. K. 2018. Cancer molecular markers: A guide to cancer detection and management. In *Seminars in cancer biology* 52: 39-55.
- Natale, A. M., Deal, P. E., and Minor Jr, D. L. 2021. Structural insights into the mechanisms and pharmacology of K2P potassium channels. *Journal of molecular biology*, 433(17): 166995.
- Nenclares, P., and Harrington, K. J. 2020. The biology of cancer. *Medicine*, 48(2): 67-72.
- Öster, C., Hendriks, K., Kopec, W., Chevelkov, V., Shi, C., Michl, D., ... and Lange, A. 2019. The conduction pathway of potassium channels is water free under physiological conditions. *Science Advances*, 5(7).

- Padma, V. V. 2015. An overview of targeted cancer therapy. *BioMedicine*, 5: 1-6.
- Payne, S. L., Ram, P., Srinivasan, D. H., Le, T. T., Levin, M., and Oudin, M. J. 2022. Potassium channel-driven bioelectric signalling regulates metastasis in triple-negative breast cancer. *EBioMedicine*, 75: 103767.
- Pardo, L. A., and Stühmer, W. 2014. The roles of K⁺ channels in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 14(1): 39-48.
- Pfeffer, C. M., and Singh, A. T. 2018. Apoptosis: a target for anticancer therapy. *International journal of molecular sciences*, 19(2): 448.
- Prevarskaya, N., Skryma, R., and Shuba, Y. 2010. Ion channels and the hallmarks of cancer. *Trends in molecular medicine*, 16(3): 107-121
- Ravi, M., Sneha, M. K., and Joshipura, A. 2019. The culture conditions and outputs from breast cancer cell line in vitro experiments. *Experimental Cell Research*, 383(2): 111548.
- Richter-Laskowska, M., Trybek, P., Delfino, D. V., and Wawrzekiewicz-Jałowicka, A. 2023. Flavonoids as Modulators of Potassium Channels. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2): 1311.
- Shah, R., Rosso, K., and Nathanson, S. D. 2014. Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World journal of clinical oncology*, 5(3): 283.
- Singh, B. N. 2008. Amiodarone as paradigm for developing new drugs for atrial fibrillation. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 52(4): 300-305.
- Steinberg, E., Fluksman, A., Zemmour, C., Tischenko, K., Karsch-Bluman, A., Brill-Karniely, Y., ... and Benny, O. 2020. Low dose amiodarone reduces tumor growth and angiogenesis. *Scientific Reports*, 10(1): 1-13.
- Teleanu, R. I., Chircov, C., Grumezescu, A. M., and Teleanu, D. M. 2019. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic strategies for cancer treatment. *Journal of clinical medicine*, 9(1): 84.
- Tian, C., Zhu, R., Zhu, L., Qiu, T., Cao, Z., and Kang, T. 2014. Potassium channels: structures, diseases, and modulators. *Chemical biology & drug design*, 83(1): 1-26.
- Trombetta-Lima, M., Krabbendam, I. E., and Dolga, A. M. 2020. Calcium-activated potassium channels: Implications for aging and age-related neurodegeneration. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 123: 105748.
- Van Erven, L., and Schalij, M. J. 2010. Amiodarone: an effective antiarrhythmic drug with unusual side effects. *Heart*, .
- Weir, C. J. 2020. Ion channels, receptors, agonists and antagonists. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 21(1):62-68.
- Xia, C., Liu, C., Ren, S., Cai, Y., Zhang, Q., and Xia, C. 2023. Potassium channels, tumorigenesis and targeted drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 162: 114673.

Yazıcıoğlu, M. B. I., Ceylaner, B., Turna, S., ve Kaşıkçı, H. Kanserde Hedefe Yönelik Monoklonal Antikor Tedavisi. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1): 95-102.

Yokuş, B., ve Çakır, D. Ü. 2012. Kanseri biyokimyası. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (1): 7-18.

Zaidel, E. J. 2019. Amiodarone: updated review of its current usefulness. *Arc. Clin. Exp. Cardiol*, 1(1): 102.

Zugazagoitia, J., Guedes, C., Ponce, S., Ferrer, I., Molina-Pinelo, S., and Paz-Ares, L. 2016. Current challenges in cancer treatment. *Clinical therapeutics*, 38(7): 1551-1566

Zúñiga, L., Cayo, A., González, W., Vilos, C., and Zúñiga, R. 2022. Potassium channels as a target for cancer therapy: current perspectives. *OncoTargets and Therapy*, 15: 783-797.



ÖZGEÇMİŞ

BEYZANUR ŞİMŞEK

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2019-2023	Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ABD, Antalya
Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2015-2019	Hemşirelik Fakültesi, Antalya

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Hemşire	Akdeniz Üniversitesi Hastanesi, Antalya
2021-Devam Ediyor	

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- BALKİS, B., ÖZKAYA, S., AYDEMİR, D., DOĞRU, M. A., OLGUNER, C., ve AYDEMİR, E. (2023). Folik Asitin Kanser Hücreleri Üzerine Etkisi ve Sitotoksitelerinin Değerlendirilmesi. *Bilim Armonisi*, 5(2), 24-31. doi.org/10.37215/bilar.1030033

2- ÖZKAYA, S., BALKİS, B., ÖZÇELİK, D. I., OLGUNER, C., ULUDAĞ, R., ve AYDEMİR, E. (2023). Kitosan Katkılı Kızılcım (Pinus Brutia Ten, Pinaceae) Kozalağı Ekstraktlarının Antikanser Etkilerinin Araştırılması. *Bilim Armonisi*, 5(2), 16-22. doi.org/10.37215/bilar.1030055

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Balkis, B., Aydemir, E. (2021). Potasyum İyon Kanalları ve Kanser. 10. ULUSAL MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE BİYOTEKNOLOJİ KONGRESİ. (Sözlü Sunum)