

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**DARBELİ ELEKTROMANYETİK ALANA KISA VE UZUN SÜRELİ
MARUZİYETİN OLEİK ASİT İLE MUAMELE EDİLEN BEYİN
HÜCRELERİNDE NÖRONAL APOPTOZ MEKANİZMALARI ÜZERİNE
MOLEKÜLER ETKİLERİ**

Ebru ÇETİN

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

HAZİRAN 2023

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**DARBELİ ELEKTROMANYETİK ALANA KISA VE UZUN SÜRELİ
MARUZİYETİN OLEİK ASİT İLE MUAMELE EDİLEN BEYİN
HÜCRELERİNDE NÖRONAL APOPTOZ MEKANİZMALARI ÜZERİNE
MOLEKÜLER ETKİLERİ**

Ebru ÇETİN

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

HAZİRAN 2023

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DARBELİ ELEKTROMANYETİK ALANA KISA VE UZUN SÜRELİ
MARUZİYETİN OLEİK ASİT İLE MUAMELE EDİLEN BEYİN
HÜCRELERİNDE NÖRONAL APOPTOZ MEKANİZMALARI ÜZERİNE
MOLEKÜLER ETKİLERİ**

Ebru ÇETİN
BIYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından FYL-2022-5915 nolu proje ile desteklenmiştir.**

HAZİRAN 2023

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DARBELİ ELEKTROMANYETİK ALANA KISA VE UZUN SÜRELİ
MARUZİYETİN OLEİK ASİT İLE MUAMELE EDİLEN BEYİN
HÜCRELERİNDE NÖRONAL APOPTOZ MEKANİZMALARI ÜZERİNE
MOLEKÜLER ETKİLERİ**

EBRU ÇETİN
BIYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 01/06/2023 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Çiğdem SARAÇ (Danışman)

Prof. Dr. Şükrü ÖZEN

Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR

ÖZET

DARBELİ ELEKTROMANYETİK ALANA KISA VE UZUN SÜRELİ MARUZİYETİN OLEİK ASİT İLE MUAMELE EDİLEN BEYİN HÜCRELERİNDE NÖRONAL APOPTOZ MEKANİZMALARI ÜZERİNE MOLEKÜLER ETKİLERİ

Ebru ÇETİN

Yüksek Lisans Tezi, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Çiğdem SARAÇ

İkinci Danışman: Prof. Dr. Serdar KARAKURT

Haziran 2023; 55 sayfa

Darbeli elektromanyetik alan (PEMF), düşük frekanslı bir elektromanyetik alan olup, çalışmalar PEMF uygulamasının parkinson hastalığı, ameliyat sonrası ağrı ve ödem, kronik yaraların tedavisi, nörodejeneratif ve oküler hastalıkların tedavisi, kanser hücrelerinin tedavisi gibi alanlarda kullanıldığını göstermiştir. Apoptoz, genel olarak hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki denge ile düzenlenen, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan programlanmış hücre ölümüdür. Membran fosfolipitlerinin ana bileşeni olan oleik asit, kanser tedavisinde otofajik veya apoptotik hücre ölümünü tetiklediği nöronal hücrelerde dahil olmak üzere çeşitli hücre kültürü çalışmalarında gösterilmiştir. Literatürde, erken çocukluk çağında görülen, simpatik sinir sisteminin öncül hücrelerinden köken alan kötü huylu bir beyin tümörü olan nöroblastomanın hücre hattında oleik asit ile birlikte PEMF maruziyetinin apoptotik mekanizmalarda rol oynayan önemli proteinler üzerine moleküler etkilerinin birlikte araştırıldığı çalışmalar kısıtlıdır. Özellikle, 75 Hz frekansında, 1 mT yoğunluğunda PEMF'ye kısa (15 dk) ve uzun süreli (12 saat) maruziyetin, oleik asit ile muamele edilen insan nöroblastoma hücre hattında nöronlar dahil olmak üzere birçok hücre tipinde apoptozun düzenlenmesinde anahtar rol oynayan genlerden TP53, bcl-2, bax, ve kaspaz-3'ün mRNA düzeylerinin incelendiği çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu bilgiler ışığında sunulan çalışmanın amacı, oleik asit ile muamele edilen insan nöroblastoma hücre hattını 75 Hz, 1 mT PEMF'ye hem kısa (15 dk) hem de uzun süre (12 saat) maruz bırakarak, oleik asit ile birlikte PEMF maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak apoptoz mekanizmasındaki etkilerini moleküler tekniklerle araştırmaktır. SH-SY5Y nöroblastoma hücreleri 6 gruba ayrılmıştır: 1. Grup: kontrol grubu, 2. Grup: Oleik asit maruziyetine bırakılan grup, 3. Grup: Oleik asit muamelesinin ardından 15 dk, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan grup, 4. Grup: Oleik asit muamelesinin ardından 12 saat, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan grup, 5. Grup: 15 dk, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan grup, 6. Grup: 12 saat, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan gruptur. Hücre canlılığı Alamar Mavisi (Alamar Blue) tekniği ile apoptozun indüklenip/indüklenmediği Akış Sitometrisi (Flow Cytometry) yöntemi ile, TP53, Bcl-2, bax, ve kaspaz-3'ün mRNA seviyeleri ise Real Time PCR tekniği ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde, oleik asit muamelesinin ardından 12 saat 75 Hz frekans 1±0.2 mT

yoğunlukta PEMF'ye maruziyetin SH-SY5Y hücre hattında kontrol HaCaT hücre hattına kıyasla hücre canlılığını azaltıcı, TP53, kaspaz-3, bax ekspresyonunu arttırıcı, Bcl-2 ekspresyonunda ise azaltıcı etki göstererek hücreleri apoptoza sürüklediği bulunmuştur. Elde ettiğimiz bilimsel verilerle PEMF uygulamasının insan beyin hücrelerinde oleik asit ile birlikte apoptoz mekanizması üzerine etkileri incelenmiş, klinik ve biyomedikal uygulama alanlarının genişletilmesine katkı sağlanılmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Darbeli Elektromanyetik Alan, oleik asit, apoptoz, nöroblastoma, kanser, SH-SY5Y hücre hattı

JÜRİ: Doç. Dr. Çiğdem SARAÇ

Prof. Dr. Şükrü ÖZEN

Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR



ABSTRACT

THE MOLECULAR EFFECTS OF SHORT- AND LONG-TERM EXPOSURE TO A PULSED ELECTROMAGNETIC FIELD ON THE NEURONAL APOPTOSIS MECHANISMS IN OLEIC ACID-TREATED BRAIN CELLS

Ebru ÇETİN

MSc Thesis in Biomedical Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Çiğdem SARAÇ

Co-Supervisor: Prof. Dr. Serdar KARAKURT

June 2023; 55 pages

Pulsed electromagnetic field (PEMF) is a low-frequency electromagnetic field, and studies have demonstrated that PEMF application is used in the treatment of Parkinson's disease, postoperative pain, edema, chronic wounds, neurodegenerative and ocular diseases, and cancer cells. Apoptosis is a programmed cell death, in which cells undergo self-destruction, regulated by the equilibrium between proapoptotic and antiapoptotic proteins, and requires RNA, protein synthesis, and energy. Oleic acid, the main component of membrane phospholipids, has been demonstrated in numerous cell culture studies including neuronal cells to trigger autophagic or apoptotic cell death in cancer treatment. In the literature, studies investigating the molecular effects of oleic acid and PEMF exposure on key molecules involved in apoptotic mechanisms in the cell line of neuroblastoma, a malignant brain tumor originating from the precursor cells of the sympathetic nervous system, are limited. Especially, studies examining the effects of 75 Hz frequency, 1 mT intensity of short- and long-term PEMF exposure on the mRNA levels of key genes such as TP53, Bcl-2, bax, and caspase-3 in apoptosis regulation in oleic acid-treated human neuroblastoma cell line are very scarce. In the light of this knowledge, the objective of the present study was to expose the oleic acid treated-human neuroblastoma cell line to 75 Hz, 1 mT PEMF for both short (15 min) and long (12 hours) term, and to investigate the effects of PEMF exposure together with oleic acid on the apoptosis mechanism depending on the exposure time with molecular techniques. SH-SY5Y neuroblastoma cells were divided into 6 experimental groups: Group 1: control group; Group 2: Oleic acid treated group; Group 3: The group exposed 75 Hz-1±0.2 mT PEMF for 15 min following oleic acid treatment; Group 4: The group exposed 75 Hz-1±0.2 mT PEMF for 12 h following oleic acid treatment; Group 5: The group exposed to 75 Hz-1±0.2 mT PEMF for 15 min; and Group 6: The group exposed to 75 Hz -1±0.2 mT PEMF for 12 h. Cell viability, apoptosis, and mRNA levels of TP53, Bcl-2, bax, caspase-3 were determined by Alamar Blue, Flow Cytometry, and Real-Time PCR techniques, respectively. Overall findings demonstrated that exposure to PEMF at 75 Hz frequency and 1±0.2 mT intensity for 12 h following oleic acid

treatment induce apoptosis in SH-SY5Y cell line by reducing cell viability, increasing TP53, bax, and caspase-3 expressions, and decreasing Bcl-2 expression. With the obtained scientific data, the effects of PEMF application on the apoptosis mechanism in human brain cells combination with oleic acid have been examined, contributing to the expansion of clinical and biomedical applications.

KEYWORDS: Pulsed Electromagnetic Field, oleic acid, apoptosis, neuroblastoma, cancer, SH-SY5Y cell line

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. ıgdem SARAÇ

Prof. Dr. Şükrü ÖZEN

Asst. Prof. Dr. Sinan KANDIR

ÖNSÖZ

Sevgili danışmanın Sayın Doç. Dr. Çiğdem SARAÇ'ın tezimin tüm süreci boyunca beni hiç yalnız bırakmaması, tüm bilgi birikimlerini paylaşması, yönlendirmesi, tavsiye vermesi ve yeri geldiğinde de eleştirmesi ve en ihtiyaç duyduğum anlarda bir hocadan daha fazlası olup bana destek ve moral vermesi çalışma süresince hem tezimin hem de benim ilerlememde büyük katkısı olmuştur. Çiğdem Hocam'a sinir bilimindeki profesyonel bilgilerini bana aktardığı ve tezimin şekillenmesinde yardımcı olduğu için, yardıma ihtiyaç duyduğumda her an ulaşabildiğim için ve tüm bu süreç boyunca benim planlama ve bilgi birikimime ve ileriki meslek hayatıma katkı sağladığı için şükranlarımı sunuyorum.

Çalışmamın deneysel aşamalarında bana laboratuvarını ve aynı zamanda bilgisini sunan, bunların dışında İLTEK'te staj imkanı sağlayarak mesleki hayatımda belki de göremeyeceğim birçok cihazı görmemi sağlayan Sayın Prof. Dr. Serdar KARAKURT hocama sonsuz teşekkür ediyorum. Laboratuvarda bana her konuda yardımcı olan ve samimi ortamlarını paylaşan tüm laboratuvar arkadaşlarıma Yüksek Mühendis Tuğçe ŞİMŞEK'e, Arş. Gör. Kemal BAŞ'a İrem Mukaddes DURMUŞ'a Halime Şeyma AKALIN'a, Havva ÇANAK'a, Süreyya ERTÜRK'e Gizem ALTUNKAYA'ya ve Cemile BİÇER'e tüm süreç boyunca desteklerini hiç esirgemedikleri ve deneysel aşamalarında bilgi ve deneyimlerini paylaştıkları için teşekkür ediyorum.

Araştırmamın en önemli basamağı olan darbeli elektromanyetik cihazının devre ve dijital kurulumu basamaklarında profesyonel bilgisi ve deneyimlerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Şükrü ÖZEN hocama sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Tez savunma jüri üyeleri Sayın Doç. Dr. Çiğdem SARAÇ, Sayın Prof. Dr. Şükrü ÖZEN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sinan KANDIR'a kıymetli tavsiyeleri ve yapıcı yorum ve eleştirileri için teşekkür ederim.

Bu sürecin bilimsel aşaması olduğu kadar da dışarıdan da bana tüm çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Numan HODA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Firdevs MERT SİVRİ'ye sonsuz teşekkür ediyorum.

Gerek ders döneminde gerek tez döneminde de bana yardımcı olup moral ve destek veren Arş. Gör. Hacer KUDUZ hocama teşekkür ederim.

Bugün de olsa destekleyeceğini bildiğim babam Mehmet ÇETİN'e, şartsız, koşulsuz desteği ve ne karar verirsem vereyim hep yanımda olan, başarılarımla hep guru duymuş olan ve bana inanan ve beni cesaretlendiren annem Ümmü Çetin ve kardeşim Kemal Mert ÇETİN'e maddi ve manevi tüm destekleri için ve sonsuz minnet duyar ve teşekkür ederim.

Bana tüm çalışma süreci boyunca desteğini ve ilgisini sunan çok sevgili nişanlım Mustafa İlhan OKUDAN'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
AKADEMİK BEYAN.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	3
2.1. Elektromanyetik Alan.....	3
2.1.2. Darbeli elektromanyetik alan (PEMF).....	4
2.2. Kanser Gelişimi ve Fizyolojisi.....	6
2.2.1. Nöroblastoma.....	8
2.3. Apoptoz.....	9
2.3.1 Apoptozun düzenlenmesi.....	9
2.3.2. Apoptozda rol oynayan önemli moleküllere yakından bakış.....	10
2.3.2.1. B-hücreli lenfoma 2 (Bcl-2) ailesi.....	10
2.3.2.2. Tümör Baskılayıcı Protein 53 (p53)	11
2.3.2.3. Kaspazlar.....	12
2.3.3. Apoptoz Mekanizması.....	12
2.3.3.1 Ektrinsik Yolak.....	12
2.3.3.2 İntrinsik Yolak.....	13
2.4. Oleik Asit.....	14
3. MATERYAL VE METOD.....	16

3.1. PEMF Devre Tasarımı.....	16
3.2. <i>In Vitro</i> Sitotoksosite Çalışmaları.....	21
3.2.1. Kimyasallar.....	21
3.2.2. Hücre Kültürü.....	21
3.2.3. Hücre Grupları.....	21
3.2.4. Sitotoksosite Deneyleri.....	22
3.2.4.1. SH-SY5Y hücre hattının oleik asit ile maruziyeti.....	22
3.2.4.2. HaCaT Hücre Hattının Oleik Asit ile Maruziyeti.....	24
3.2.5. Apoptoz Çalışmaları.....	24
3.2.6. Gen Ekspresyonu Çalışmaları.....	25
3.2.6.1. Total RNA İzolasyonu.....	25
3.2.6.2. RNA konsantrasyonu hesaplama.....	26
3.2.6.3. cDNA sentezi.....	27
3.2.6.4. mRNA düzeyinde ekspresyonlarının tayin edilmesi.....	27
3.3. İstatiksel Analiz.....	28
4. BULGULAR.....	29
4.1. Pasco 850 Universal Interface Model Sinyal Üreticinden Elde Edilen Manyetik Alanın Grafik Modeli.....	29
4.2. PEMF Maruziyetinin Hücre Canlılığına Etkileri.....	31
4.3. PEMF Maruziyetinin Apoptoz Üzerindeki Etkileri.....	31
4.4. PEMF Maruziyetinin Apoptoz Yoluğında Rol Alan Kilit Genlerin Ekspresyonu Üzerine Etkisi.....	34
4.4.1. Bax Gen Ekspresyonu.....	34
4.4.2. Bcl-2 Gen Ekspresyonu.....	35
4.4.3. Kaspaz3 Gen Ekspresyonu.....	36
4.4.4. TP-53 Gen Ekspresyonu.....	37
5. TARTIŞMA.....	39

6. SONUÇLAR.....	44
7. KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ	



AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Darbeli Elektromanyetik Alana Kısa ve Uzun Süreli Maruziyetin Oleik Asit ile Muamele Edilen Beyin Hücrelerinde Nöronal Apoptoz Mekanizmaları Üzerine Moleküler Etkileri” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

01/06/2023

Ebru ÇETİN

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler:

cm	: santimetre
$d\vec{B}$	: Manyetik Alan
$d\vec{l}$	: Telin Küçük Parçası
dH ₂ O	: Distile Su
g	: Gram
kg	: Kilogram
M	: Molarite
mA	: Miliamper
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimetre
ms	: Milisaniye
nm	: Nanometre
s	: Saniye
V/m	: Volt/Metre
W/kg	: Watt/Kilogram
W/m ²	: Watt/Metrekare
Λ	: Dalga Boyu
μT	: Mikro Tesla
$\mu 0$	: İletkenliğin Geçirgenliği
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

$\hat{r}$: Birim Vektörü
°C : Santigrat Derece

Kısaltmalar

A : Amper
AH : Alzheimer Hastalığı
ATCC : Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
ATP : Adenozin Trifosfat
B : Manyetik Alan
BT : Bilgisayarlı Tomografi
D : Örnek Seyreltme Faktörü
dH₂O : Distile Su
DMSO : Dimetil Sülfoksit
DNA : Deoksiribonükleik asit
E : Elektriksel Alan
EFA : Esansiyel Yağ Asidi
ELF-EMF : Aşırı Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan
EMF : Elektromanyetik Alan
EMEM : Eagle Minimum Besi Ortamı
FBS : Fetal Sığır Serumı
GHz : Giga Hertz
GST : Glutasyon S-Transferaz
HaCaT : İnsan Epidermal Keratinosit Hattı
Hela : Rahim Ağzı Kanseri Hücresi
Hz : Hertz
I : Bobinden geçen akım miktarı

ICNIRP	: Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Komisyon
IC ₅₀	: Toplam Hücre Sayısının Yarisını İnhibe Eden
İlaç/Madde	Konsantrasyonu
IFN- γ	:İnterferon gamma
KHz	: Kilo Hertz
MHz	: Mega Hertz
mRNA	: Mesajcı RNA
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mT	: Mili Tesla
MUFA	: Tekli Doymamış Yağ Asidi
OA	: Oleik Asit
PBS	: Fosfat Tamponu
PEMF	: Darbeli Elektromanyetik Alan
PKC	: Protein Kinaz C
PUFA	: Çoklu Doymamış Yağ Asidi
p53	: Tümör Protein 53
R	: Bobin Yarıçapı
RF-EMF	: Radyo Frekans-Elektromanyetik Alan
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Rekaktif Oksijen Türleri
RPM	: Devir Sayısı
SAR	: Özgül Soğurma Oranı
SD	: Sprague Dawley
SD	: Standart Sapma
SH-SY5Y	: Nöroblastoma Hücre Hattı
SMF	: Statik Manyetik Alan

STAT	: Sinyal İletimcileri ve Transkripsiyon Aktivatörleri
T	: Tesla
TNF-alfa	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
Tripsin-EDTA	: Tripsin Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
TSCC	: Primer Tiroid Squamoz Hücre Karsinomu
V	: Volt
V	: Reaksiyon Kuyucuğundaki Numune Hacmi (mL)
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
X_0	: Bobin yarıçap ekseni
X_g	: Devir Sayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Elektromanyetik Spektrum: a) 102 ile 1021 Hz frekans aralığı; b) radyasyon özelliklerine göre bant isimleri; c) baz istasyonları ve ev aletlerinden tıbbi cihazlara kadar gündelik yaşamımızda elektromanyetik alana kaynaklık eden cihazlar (Kim vd., 2019).....	4
Şekil 2.2. Darbeli elektromanyetik alan uygulamalarında kullanılan sinüs dalga, kare dalga, üçgen dalga ve testere dişli dalga modelleri.....	5
Şekil 2.3. Helmholtz Bobin Çifti. R/2: Bobin yarıçap eksen; I: Bobinden geçen akım miktarı; R: Bobin yarıçapı.....	6
Şekil 2.4. PEMF devrelerinde kullanılan bobin çeşitleri: a) Helmholtz Bobin; b) Ruben's Bobin; c) Fransleau-Braunbeck (Ganesan vd., 2009).....	6
Şekil 2.5. Apoptoz mekanizması ve apoptoz mekanizmasında rol oynayan moleküller (Pitolli vd., 2019).....	11
Şekil 2.6. Apoptoz mekanizmasında gözlenen ekstrinsik yolak ve intrinsik yolak (Kamali vd.,2021).....	13
Şekil 2.7. Oleik asidin moleküler yapısı.....	14
Şekil 3.1. Manyetik alan sağlayan helmholtz bobin çifti, bobinlerin sabitlendiği helmholtz bobin altlığı, platformun sabitlenmesini sağlayan platform ayakları, bobinlere elektromanyetik alan sağlayan Pasco 850 sinyal üretici, manyetik alanı ölçen manyetik alan sensörü ve PEMF'ye maruz bırakılan SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerini içeren ve petri kabından oluşan Darbeli Elektromanyetik Alan (PEMF) Düzenegi.....	16
Şekil 3.2. Pasco 850 Universal Interface model sinyal üretici.....	17
Şekil 3.3. PEMF devresinin sinyal üretici (Signal Generator) ve Pasco Capstone Yazılımı ile bağlantısı.....	18
Şekil 3.4. Pasco 850 Capstone Yazılımı Ara yüzü.....	19
Şekil 3.5. a) Bobinlere eş uzaklıkta dikey (aksiyel) ekseninde yerleştirilen manyetik alan sensörü, b) ilk 0.16 dakikadaki ve c) 12 saat sıkıştırılmış 1 ± 0.2 mT manyetik alan sinyallerinin Pasco Capstone Yazılım ile elde edilen manyetik alan dalga sinyalleri.....	20
Şekil 3.6. En yüksek IC50 değerine sahip olan SH-SYY hücresi üzerindeki sitotoksiste deneyinin şematik gösterimi.....	22

Şekil 3.7. Tripan mavisi ile süspanse edilen SH-SY5Y ve HaCaT hücre hattının canlı ve ölü hücrelerinin inverter mikroskop altında incelenmesi.....	23
Şekil 3.8. Oleik aside maruz bırakılan SH-SY5Y hücre hattının inkübatöre kaldırılması.....	23
Şekil 3.9. HaCaT hücre hattının oleik asite maruziyeti sonrası inkübatöre kaldırılması.....	24
Şekil 3.9. Apoptoz çalışmalarının şematik gösterimi.....	25
Şekil 3.10. RNA izolasyonu şematik gösterimi.....	26
Şekil 4.1. Manyetik alan değerinin 1 mT değerinde ortalaması ile ± 0.2 mT arasında değişimi.....	29
Şekil 4.2. Hücrelerin PEMF'ye maruziyeti.....	30
Şekil 4.3. Hücre canlılığı yüzdesinin (%) gruplar arasında karşılaştırılması. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirilmiş, çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test kullanılmıştır. *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.....	31
Şekil 4.4. Deney gruplarının (a) Annexin V^{+66} hücre yüzdesi gösterimi, (b) erken/geç apoptotik ve nekrotik etkisi.....	34
Şekil 4.5. Bax mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.....	35
Şekil 4.6. Bcl-2 mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.....	36
Şekil 4.7. Caspase-3 mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.....	37
Şekil 4.8. TP-3 mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Kaynağa Göre Elektrik ve Manyetik Alan Maruziyet Sınırları.....	3
Çizelge 2.2 Bcl-2 ailesinden apoptozu baskılayan ve indükleyen genler.....	10
Çizelge 3.1. Pasco 850 Universal Interface model sinyal üreticinin özellikleri.....	17
Çizelge 3.1. Genlerin primer dizilimi ve bilgileri.....	28



1. GİRİŞ

Beyin, ana işlevlerini sürdürmek için sürekli ve önemli bir enerji kaynağına ihtiyaç duyar (Romanoa ve ark. 2017). Glikoz, temel enerji verici substratı olmaya devam etse de, artan kanıtlar, beynin yağ asitlerini ve keton cisimcikleri gibi diğer dolaşımdaki substratları kullanarak farklı metabolik koşullara uyum sağlayabildiğini göstermektedir (Belanger ve ark., 2011). Yağ asitleri, biyolojik zarların ana bileşenleri olup hücre içi sinyal yollarında önemli roller oynamakta, kimyasal olarak doymuş ve doymamış (tekli doymamış (MUFA) ve çoklu doymamış (PUFA)) yağ asitleri olarak sınıflandırılmaktadırlar (Giulitti ve ark., 2021). Beyaz yağ dokusundan sonra vücuttaki en yüksek lipid içeriğine sahip organ olan beynimizde enerji metabolizmasının ötesinde, beyin yağ asitlerinin kendileri veya onların metabolitleri, anti-inflamatuvar ve nöroprotektif moleküller olarak birçok temel fonksiyonda görev almakta (Romanoa ve ark., 2017), beynimizde lipidlerin biyosentezi ve birikimi nöral hücre zarlarının gelişimle ilişkili biyogenezi sırasında, beyin yapısının ve işlevinin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Natali ve ark 2007).

Oleik asit (OA), n-9 ailesinden tekli doymamış yağ asidi (MUFA) sınıfında olup zeytinyağının bir bileşenidir, esansiyel bir yağ asidi (EFA) değildir fakat beyinde membran fosfolipidlerinin ana bileşeni olup beynin uygun gelişimi ve işleyişi için gerekli bir yağ asidi olduğu çalışmalarca raporlanmıştır (Casey ve ark. 2019; Mermer ve ark. 2020). Oleik asitin, kanser tedavisinde otofajik veya apoptotik hücre ölümünü tetiklediği (Aits, 2009; Niso-Santano, 2015; Jiang ve ark. 2017), bazı nöron olmayan hücre popülasyonlarında proapoptotik kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir (Duval ve ark. 2002; Klumpp ve ark. 2002; Wrede ve ark. 2002; Maestre ve ark., 2003; Puertollano ve ark. 2003). Ayrıca, oleik asitin insan nöroblastoma kültürü dahil çeşitli nöronal kültürlerde (sıçan embriyonik korteks primer nöronal kültürü, neonatal sıçan hipokampusundan nöron ve astrosit karışımı kültürü) apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Zhu ve ark. 2005).

Apoptoz, genel olarak hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki denge ile düzenlenen, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan programlanmış hücre ölümüdür (Coşkun vd., 2011). Apoptoz, hücre dışından (hücre yüzeyindeki ölüm reseptörleri) ve hücre içinden (mitokondriyal yolak) olmak üzere iki ayrı mekanizma ile indüklenebilir (Atağün vd., 2011). Mitokondriyal yolda, hücrenin ölümüne ya da yaşamına karar verecek olan en önemli faktör sitokrom-c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınmasını başlatan apoptozis uyarıcı proapoptotik (bax, bcl-xs, bad, bim, bid), ve sitokrom-c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınmasını baskılayan apoptozis baskılayıcı antiapoptotik (Bcl-2, bcl-xl, mcl-1) üyeleri bulunan Bcl-2 ailesinin üyeleridir (Pistritti vd., 2016). ATP ve dATP varlığında sitokrom c'nin Apaf-1'e bağlanması prokaspaz-9'un aktivasyonuna yol açar, aktifleşen kaspaz-9 da daha sonra apoptozisi gerçekleştiren kaspazları (kaspaz-3 gibi) aktive eder (Roberts vd., 2012). Her dokunun eksprese ettiği kaspaz tipi farklıyken, Kaspaz-3 neredeyse birçok dokuda bulunan yaygın bir kaspazdır (Coşkun vd., 2011). Apoptozis, genotoksik ajanların etkisiyle yaratılan ağır DNA hasarına yanıt olarak gelişen p53'ün indüksiyonuyla da başlatılabilir. İndüklenen p53, bir pro-apoptotik Bcl-2 ailesi üyesi olan bax'ın indüksiyonuna yol açarak apoptozisi başlatır (Xu vd., 2020). Beyin kanser hücreleri üzerine yapılan hücre kültürü çalışmaları, farklı frekans ve dalga boyuna sahip PEMF'nin belirli zaman aralıklarıyla

uygulanmasının apoptoz ve apoptoza bağlı genlerin seviyelerinde değişikliğe neden olduğunu göstermiştir (Akbarnejad vd., 2017; Amiri vd., 2017; Kaszuba vd., 2018).

Elektromanyetik alan elektrik alanın ve manyetik alanın birbirine dik doğrultuda bulunarak zamanla değişip elektromanyetik alanı oluşturması ile ortaya çıkar. Düşük frekanslı EMF uygulamalarının içinde en dikkat çekenini belirli dalga formuna ve genliğe sahip olan “Darbeli Elektromanyetik Alan (Pulsed Electromagnetic Field) (PEMF)”dır (Krath vd., 2017). PEMF’ler darbeleri sinyallerle üretilir, manyetik alan tepe değeri miliTesla(mT) ve dU/değişim oranı (dt) hızlıdır (milisaniye) (Vadala vd., 2016). Yapılan çalışmalar, düşük frekans ve yoğunluğa sahip PEMF’nin yumuşak doku hasarı veya kırıkların iyileşmesinde, seçici psikiyatrik bozuklukları, ameliyat sonrası ağrı, cilt ülserleri, migren, nörodejeneratif bozukluklar gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığını, hücre zarının geçirgenliğini arttırdığını, hücre proliferasyonu sağlayarak yara iyileşmesinde kullanılabileceğini göstermiştir (Vadala vd., 2016; Demirel vd., 2016; Gümüsay vd., 2016). Ayrıca, PEMF’nin çok çeşitli kanserli hücre kültürlerine direkt ya da kemoterapötik ilaçlarla birlikte uygulanmasının hücre canlılığını değiştirdiği, kanserli hücre proliferasyonunu engellereyerek apoptozu indüklediği raporlanmıştır (Akbarnejad vd., 2017; Amiri vd., 2017). Farklı frekans (1Hz, 50 Hz, 100 Hz, 125 Hz, 200 Hz, 275 Hz) ve dalga boyuna (10 G, 50 G, 70 G, 100 G, 1000 G) sahip düşük frekanslı elektromanyetik alanların (ELF-EMF), statik manyetik alanların (SMF), farklı frekanstaki radyo frekansların (900 MHz, 2.1 GHz RF), farklı frekans (1Hz, 50 Hz, 100 Hz) ve dalga boyunda (50 G, 70 G, 100 G, 100 G) PEMF’nin, farklı sürelerde (gün, saat) maruziyetinin kanser hücrelerinde (meme kanseri, kemik kanseri, cilt kanseri, beyin kanseri hücreleri gibi) etkilerinin araştırıldığı *in vivo* çalışmalar mevcuttur (Akbarnejad vd., 2017; Amiri vd., 2017).

Literatürde, erken çocukluk çağında görülen ve sempatik sinir sisteminden kaynaklanan kötü huylu bir beyin tümörü olan insan nöroblastoma hücre hattı üzerinde, belirli bir frekansa ve dalga boyuna sahip PEMF’nin hem kısa hem de uzun süreli maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak apoptoz mekanizmalarına etkilerini araştıran çalışmalar yok denecek azdır. Özellikle, beyin kanser hücrelerinde hücre proliferasyonu ve/veya hücre ölümüne, apoptoz mekanizmalarına etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamış olan oleik asitin PEMF ile birlikte değerlendirildiği çalışmalar yok denecek kadar azdır. Tez çalışması, daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak, farklı konsantrasyon ve sürelerde oleik asit ile muamele edilen insan nöroblastoma hücre hattını 75 Hz, 1 mT PEMF’ye hem kısa (15 dk) hem de uzun süre (12 saat) maruz bırakarak, oleik asit ile birlikte PEMF maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak hücre canlılığına, apoptozu indükleyip indüklediğine ve apoptoz mekanizmasında rol alan kilit moleküllerin (kaspaz-3, Bcl-2 gen ailesinden antiapoptotik “bcl-2” ve proapoptotik “bax”, ve tümör baskılayıcı bir gen olan “TP53”) mRNA düzeylerine etkilerini farklı moleküler tekniklerle inceleyerek literatüre katkı sağlamayı amaçlamıştır. Elde edilen bilimsel verilerle, beynin uygun gelişimi ve işleyişi için gerekli bir yağ asidi olan oleik asit ile birlikte PEMF uygulamasının insan nöroblastoma hücrelerinde apoptoz mekanizmalarındaki etkileri farklı moleküler yöntemlerle incelenerek, beyin tümörlerinin progresyonu ve tedavisinde doymamış yağ asitlerinin kullanımı ve bunların PEMF ile birlikte uygulanmasıyla biyomedikal uygulama alanlarının genişletilmesine katkı sağlanması hedeflenmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Elektromanyetik Alan

Elektromanyetik alan teorisi pusulanın çalışma prensibinin dünyanın kendi manyetik alanını üretmesinden kaynaklı olduğunu ortaya koyarak 1820’lerde Michael Faraday tarafından keşfedilmiştir. Birim yüke etki eden elektrik kuvveti olan elektriksel alan ve Lorentz kuvveti ile tanımlanan hareketli elektrik yüklerine etki eden kuvvet olan mıknatısların (manyetik alan) birleşmesi ile yüklerin hareketi ile elektromanyetik alanlar (EMF) meydana gelir (Şeker ve Çerezci, 2000). Elektromanyetik alanı oluşturan voltajdan kaynaklanan elektrik alanın yoğunluğu (E), birimi Volt/metre (V/m) olup ve manyetik alanın yoğunluğu (B), birimi Tesla (T) ya da yaygın kullanımı ile mikroTesla (mT) arasındaki ilişki Maxwell denklemi ile tanımlanmıştır. Manyetik alanın uluslararası birimi (SI) olan Tesla Nikola Tesla’nın soyadından gelmekte olup yaygın kullanımda büyük bir birim olmakla birlikte ABD’de Gauss (G) birimi kullanılmaktadır. $1T=10.000G$ olarak kabul görülüp, yaygın olarak kullanılan mT’da ise eşitlik $1\mu T=10\text{ mG}$ ’dir.

Elektromanyetik alana maruz kalma ve sınır seviyesi WHO tarafından belirlenmiştir. WHO’ya göre elektrik alana (V/m) maksimum maruziyet süresi doğal alan da 200, enerji hattı (hatta uzak evlerde) 100, enerji hattı (hattın altında) 10.000, elektrikli tren-tramvayda 300, TV ve bilgisayar ekranında ise 10 olarak belirlenmiştir. Manyetik yoğunluğa (μT) maksimum maruziyet süresi ise doğal alanda 70 (dünya manyetik alanı), enerji hattı (hatta uzak evlerde) 0.2, enerji hattı (hattın altında) 20, elektrikli tren-tramvayda 50, TV ve bilgisayar ekranında ise 0.7 olarak belirlenmiştir. (WHO, 1999) (Tablo 2.1).

Çizelge 2.1. Kaynağa Göre Elektrik ve Manyetik Alan Maruziyet Sınırları

KAYNAK	Maksimum Maruziyet	
	Elektrik alan (V/m)	Manyetik yoğunluk (μT)
Doğal Alan	200	70 (dünya manyetik alanı)
Enerji Hattı (hatta uzak evlerde)	100	0.2
Enerji Hattı (hattın altında)	10 000	20
Elektrikli tren-tramvay	300	50
TV ve bilgisayar ekranı	10	0.7

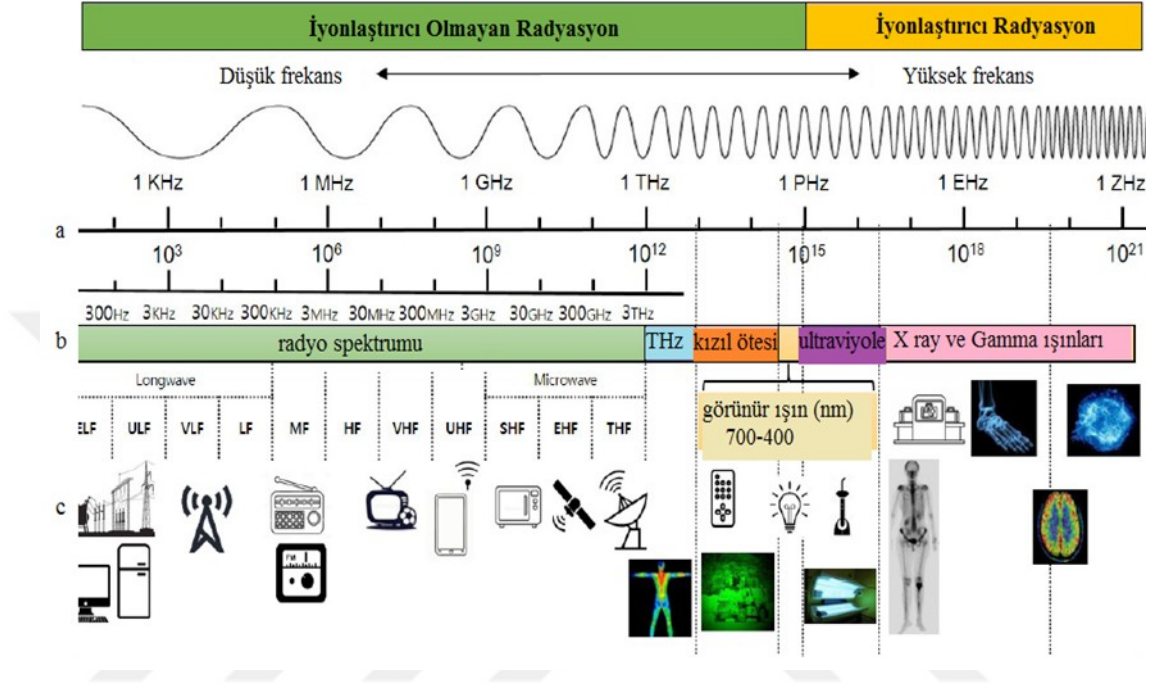
WHO (1999) What are electromagnetic fields?,

<http://www.who.int/peh-emf/about/WhatIsEMF/en/> (erişim : 27/03/2008).

Manyetik alanlar; Statik Manyetik Alan (SMA) ve Zamanla Değişen Manyetik Alan’dır. Statik manyetik alanlar kendiliğinden varolmakla birlikte aynı zamanda yapay olarak da elde edilebilirler. Frekansları 0 Hz’dir. Elektromanyetik radyasyon 3-3000 Hz aralığındadır ve insan yapımıdır. Çok geniş bir dalga boyu ve frekans aralığına sahiptir. Bu aralık elektromanyetik spektrum olarak bilinmekte ve adlandırılmaktadır.

Elektromanyetik spektrum genel olarak azalan dalga boyu, artan enerji miktarı ve frekans sıklığına göre 7 farklı çeşitte sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırmalar şunlardır; radyo dalgaları, mikrodalgalar, kızılötesi (IR), görünür ışık, ultraviyole ışık

(UV), iyonlaştırıcı radyasyon olan 10^{15} - 10^{21} frekans aralığındaki X-ışınları ve nanometre dalga boyunda gama ışınları. Genellikle, radyo dalgaları gibi düşük enerjiye sahip radyasyonlar frekans olarak ifade edilir; Mikrodalgalar, kızılötesi, görünür ve UV ışığı dalga boyları olarak ifade edilir; X-ışınları ve gama ışınları gibi yüksek enerjiye sahip radyasyon türleri ise foton başına düşen enerji miktarı cinsinden ifade edilmektedir (Şekil 2.1.).



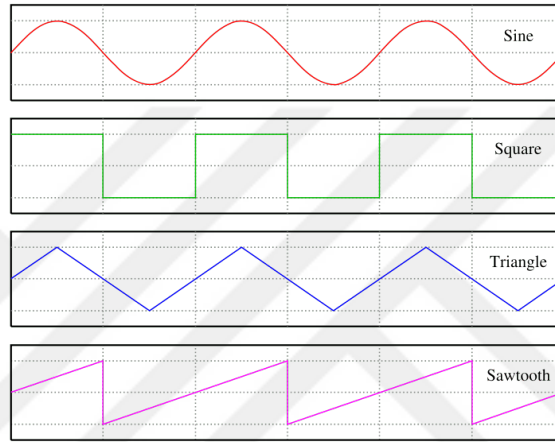
Şekil 2.1. Elektromanyetik Spektrum: a) 102 ile 1021 Hz frekans aralığı; b) radyasyon özelliklerine göre bant isimleri; c) baz istasyonları ve ev aletlerinden tıbbi cihazlara kadar gündelik yaşamımızda elektromanyetik alana kaynaklık eden cihazlar (Kim vd. 2019).

2.1.2. Darbeli elektromanyetik alan (PEMF)

Elektromanyetik alanlar “Aşırı Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alan (Extremely Low Frequency Electromagnetic Field) (ELF-EMF, <300 Hz)”, “Ara Frekanslı Elektromanyetik Alan (Intermediate Frequency Electromagnetic Field) (300 Hz–10 MHz)” ve “Radyo Frekansı (Radio Frequency) (10 MHz–300 GHz)” olmak üzere elektromanyetik alanların spektrumuna göre verilen adı ve frekans aralıklarıdır (Hao vd. 2018; Wang ve Zhang 2017). Düşük frekanslı EMF uygulamalarının içinde en dikkat çeken belirli dalga formuna ve genliğe sahip olan, iyonlaştırıcı olmayan “Darbeli Elektromanyetik Alan (Pulsed Electromagnetic Field) (PEMF)”dır (Krath vd., 2017). PEMF devresinin temelinde sinyal üretici ve bobin bulunmaktadır. Sinyal üretici ve bobinler sayesinde farklı değerlerde frekans ve genlikler üretilir (Jiang 2018; Kohli vd. 2020). PEMF’ler darbeli sinyallerle üretilir, manyetik alan tepe değeri miliTesla(mT) ve dU/değişim oranı (dt) hızlıdır (milisaniye) (Vadala vd., 2016). PEMF’de yayılan manyetik alan Uluslararası İyonlaştırıcı Olmayan Radyasyondan Koruma

Komisyonu (ICNRP) tarafından $10 \mu\text{T}$ ve 10 mT arasında olması belirlenmiştir (ICNRP 1998; Hug ve Rösli 2012).

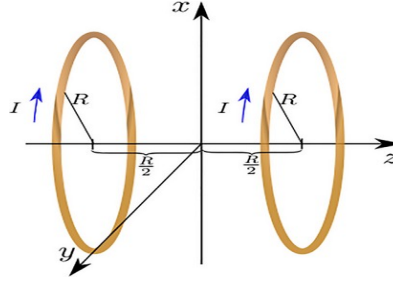
Darbeli elektromanyetik alanlar (PEMF) periyodik alternatif akım (AC) taşıyan manyetik alanlar olmasına rağmen statik alan ve alternatif akım (AC) taşıyan manyetik alanlara göre kesikli ve periyodik olarak dalga üretmektedirler (Shupak vd. 2004; Jiang 2018). PEMF ile elektromanyetik alanların sahip olduğu sinüs dalga formundaki “Sinüsoidal Dalgalar” ve sinüs dalga formunda olmayan “Darbeli (Kare) Dalga”, “Testere Dalga” ve “Üçgen Dalga” formunda çalışmalar yapılabilir (Pawluk ve Layne 2017; Kohli vd. 2020) (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Darbeli elektromanyetik alan uygulamalarında kullanılan sinüs dalga, kare dalga, üçgen dalga ve testere dişli dalga modelleri

Darbeli elektromanyetik alan uygulamalarında kullanılan Helmholtz bobin sistemlerinin temel amacı, neredeyse homojen bir manyetik alan oluşturmaktır. Bu amaçla, bobinler özdeş bobinlerden oluşur. Manyetik alan şiddeti iki ana parametreye bağlıdır; bobin sayısı ve akım. Bu nedenle simetrik olarak konumlandırılan bobinler aynı eksen ve aynı yönde eşit miktarda akım taşır. Bu konumlandırma merkezde düzgün bir manyetik alan sağlar (Androjina vd., 2014). Bobinler arasındaki manyetik alan, bobine dik olan alanlara bağlıdır. Ortak eksen ve aynı yöndeki paralel alanlar birbirini fesheder ve bu da sağ el kuralına dayanır (Şekil 2.3.). Bir elektrik alan tarafından üretilen manyetik alanı açıklayan “Biot-Savart yasası” Jean-Baptiste ve Felix Savart tarafından 1820’de ortaya çıkmıştır. Manyetik alanı (B) oluşturan hareketli yükün ne kadar manyetik alan oluşturduğunu Biot-Savart yasası açıklar. Herhangi bir akımın bir noktaya olan manyetik akımı $d\vec{l}$, $\vec{r}$ var ise telin etrafında oluşan manyetik alan Biot-Savarttır. Manyetik alan yarıçapın karesi ile ters orantılı, akım ile de doğru orantılıdır. Manyetik alanın yönü sağ el kuralı ile bulunur. Sağ el kuralı ile; yüklü parçacığa etki eden manyetik kuvvet, iletken tele etki eden manyetik kuvvet ve iletken telin oluşturduğu manyetik kuvvetin yönü bulunabilir. Sağ el kuralına göre başparmak akım ile aynı yönde olmak kaydıyla iletken teli kavradığımız zaman dört parmak manyetik alanın yönünü gösterir. Üzerinden akım

geçen bir tel etrafındaki manyetik alan çembersel çizgi boyunca sabit büyüklükte ve yönü çembere teğet olacak şekilde manyetik alan oluşturur.



Şekil 2.3. Helmholtz Bobin Çifti. $R/2$: Bobin yarıçap eksen; I : Bobinden geçen akım miktarı; R : Bobin yarıçapı

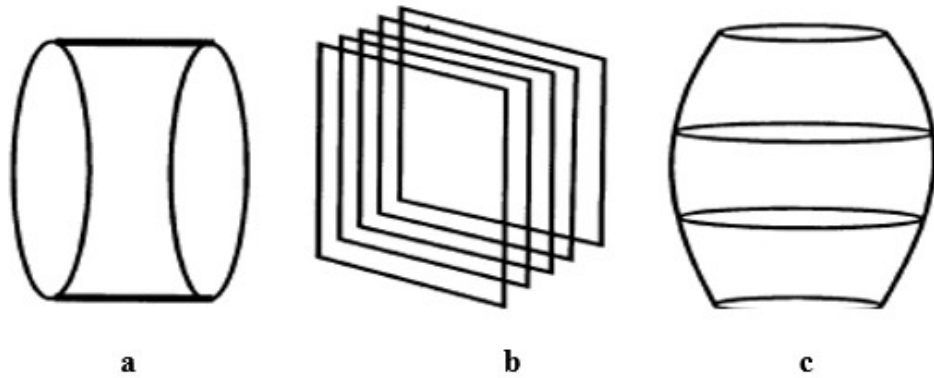
Biot-Savart kanunu:

$$d\vec{B} = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{I \cdot d\vec{l} \times \hat{r}}{r^2}$$

(2.1)

$d\vec{B}$, manyetik alan; $d\vec{l}$, telin küçük parçası; I , iletken telde üretilen akım; r , referans noktasından bobinlerdeki manyetik alana olan uzaklığı; $\hat{r}$, i birim vektörü; μ_0 , iletkenliğin geçirgenliği. $\mu_0 = 4\pi \times 10^{-7} \text{ T}\cdot\text{m/A}$

Bobinlerdeki dezavantaj olarak görülen manyetik alanın homojen yayılamaması ve manyetik alan ile uyarılan ana bölgenin tespit edilememesi Helmholtz bobin sisteminin farklı şekil ve boyutları ile ortadan kalkmaktadır (Jiang 2018; Kohli vd. 2020) (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. PEMF devrelerinde kullanılan bobin çeşitleri: **a)** Helmholtz Bobin; **b)** Ruben's Bobin; **c)** Fransleau-Braunbeck (Ganesan vd. 2009).

2.2. Kanser Gelişimi ve Fizyolojisi

Kanser yüzyıllardır hakkında araştırma yapılarak tedavi yöntemi aranan ve hala da bilimsel tedavi yöntemi geliştirilmekte olan genetik bozuklukların neden olduğu, anormal ve kontrolsüz hücre bölünmesinin görüldüğü bir hastalık türüdür (Martínez-Jiménez vd., 2020). Kanser dünya çapında ikinci en ölümcül hastalık olmasıyla birlikte her yıl 8 milyondan fazla ölüme neden olmakta ve her gün yaklaşık 4.950 yeni vaka görülmektedir (Siegel, Miller & Jemal, 2020). Antik Yunan'da Galen (M.S. 2.yüzyıl) kanserin sebep olduğu ağrının yengeç ısırganının acısına benzemesinden ve şişmiş kan damarlarıyla sarılı tümör şeklinin de yengece benzemesinden dolayı kansere Yunanca'da yengeç anlamına gelen "carcinos" ve "carcinoma" terimlerini vermişlerdir. Kanser bilimi olan onkoloji ise yine Yunanca'da şişlik anlamına gelen "oncos" kelimesinden gelmektedir. Antik Yunan'da ilk olarak meme kanseri daha sonralarında ise rahim kanseri, mide kanserinin görülmesi ile birlikte bu kanser türleri hakkında birçok bilgiye sahip olmuşlardır.

19. yüzyılın başlarında mikroskobun icat edilmesi ile birlikte tümörler hakkında daha çok bilgiye sahip olunarak kanser araştırmaları hız kazanmıştır. Robert Brown 1831 yılında çekirdeğin hücredeki varlığını keşfetmesi ile birlikte 1838'de Johannes Müller hücre teorisini ortaya koymuştur. Bu teorilerden yola çıkarak J.F. Cohnheim 1877 yılında kanserin organizmalarda embriyonik gelişim sırasında yanlış bölgelere yerleşen hücrelerin bıraktığı embriyonik kalıntılardan meydana geldiği teorisini öne sürmüştür. II. Dünya Savaşı dönemlerinde kanser tedavisinde kullanılmaya başlanan kemoterapi ile birlikte kanser tedavisinde yeni bir dönem başlamıştır. Bununla birlikte 20. Yüzyılın başlarında Avrupa'da birçok kanser merkezi kurulmaya başlanarak kanser ile mücadele giderek global bir hal almaya başlamıştır. 1895'te X-Ray'in 1898'de ise radyoaktivitenin keşfi ile kanser tedavisi ve kanser tanılarında birçok yenilik meydana gelmiştir. Kemoterapinin yanında immunoterapi ile organizmanın kendi tümör hücrelerini öldürerek farklı bir tedavi yönteminin amaçlanması ile birlikte günümüzde kişiye özgü tedavi yöntemleri kullanılmaktadır.

Normal vücut hücreleri bölünür, büyür ve daha sonrasında ise ölümler ilerleyen yaşlarda hücre bölünmesinin yavaşlaması ile birlikte ise yine hücre bölünmesi gözlenerek doku bütünlüğü ölen hücrelerin yeri doldurularak sağlanır. Ancak kanser hücreleri karsinogenez sırasında ileri genetik değişiklikler, çevresel faktörlerin değişmesi ya da apoptoz ve hücre bölünmesinde görev alan genetik faktörlerin mutasyona uğraması sonucu kontrolsüz bir şekilde çoğalırlar ve bu kontrolsüz çoğalma sonucu dokularda birikerek tümörlerin oluşumuna sebep olurlar. Metastaz kanserli hücrelerin kan ve lenf sistemi yolu ile bulundukları dokudan başka dokulara yayılması olup malign (kötü huylu) hücreler vücutta çoğalarak yayılan kanserli hücrelerdir. Vücutta ortaya çıktığı dokudan vücudun farklı dokularına yayılmayan (in-situ) ve zamanla daha az mutasyona uğrayan hücrelere ise benign (iyi huylu) tümörler adı verilir. (Bertram 2001; Cooper ve Hausman 2004). Tümörün ortaya çıkması ve ilerlemesindeki ilk evre olan başlama evresi endojen (reaktif oksijen türleri-ROS) ve ekzojen (sigara dumanı, UV ışını) etkiler ile ortaya çıkabilir. Başlatıcı ajanlar DNA'da hasar meydana getirerek proto-onkogenleri aktif hale getirir ve tümör baskılayıcı genleri de destekleyici ajanlar ile birlikte baskırlar.

Kanserli hücrelerin normal hücrelere göre daha kontrolsüz çoğalmalarının temelinde normal hücre döngüsünde dinlenme fazı olan G_0 , RNA ve protein sentezi gerçekleşen G_1 (interfaz), DNA replikasyonu gerçekleşen S (sentez fazı), S fazından mitozla kadar geçen faz ise G_2 ve son safha olan M (mitoz) fazları gerçekleşirken kanserli hücrelerde G_1 , S ve G_2 fazları gerçekleşir. (Collins ve ark. 1997; Park ve Lee 2002; Lewin 2004; Vermeulen ve ark. 2003). G_1 -S, S, G_2 -M gibi faz geçişlerinde ve metafaz-anafaz arasında bulunan kontrol noktalarında DNA'da bir hasar oluşmuşsa hücre döngüsü G_1 , veya G_2 fazlarında durdurularak DNA onarıldıktan sonra döngü devam etmektedir (Lukas ve ark. 2004; Cabadak 2008). Tümör baskılayıcı gen ürünü olan p53, G_1 fazını inhibe ederek hasarın onarılması için zaman kazandırır. DNA tamir edilemez durumda ise p53 hücreyi apoptoza (programlı hücre ölümü) sürükler (Vermeulen ve ark. 2005; Sadiquov 2001).

2.2.1. Nöroblastoma

Beyin kanseri tüm kanser türleri arasında ölüm sıralamasında dünyada onuncu sırada yer almakla birlikte özellikle çocuklarda kanserden kaynaklanan ölümlerin başında gelen nedenlerden biridir. Ölümcül olmayan beyin kanserleri ise beyin işleyiş fonksiyonunu değiştirmekte ve günlük yaşamı zorlaştırmaktadır. Kanser tedavilerindeki gelişmelere rağmen beyin kanserinin tedavisi oldukça zordur ve halen etkili bir ilacı olmayan tümörler grubuna girmektedir. Beyin kanseri yavaş büyüyen iyi huylu (I. ve II. derece) tümörler ve merkezi sinir sisteminde primer (kök hücre) beyin hücrelerinin anormal gelişim göstermesi ve metastaz ile kanserli hücrelerin diğer organlardan kan dolaşımıyla beyine göç etmesi sonucunda oluşan kötü huylu (III. ve IV. derece) tümörler olmak üzere ikiye ayrılır. Kötü huylu (malign) tümörler de kendi içinde birincil (primer) ve ikincil (sekonder) tümörler olmak üzere ikiye ayrılır (Singh ve ark. 2003; Vescovi ve ark. 2006; Mohsen ve ark. 2018). Birincil tümörler cerrahi yöntemlerle tedavi edilebilirken, ikincil tümörler %26 oranında beyin ve sinir sisteminde yumuşak doku sarkomlarında %7, Nöroblastomada %6, Hodgkin dışı lenfomalar ve Burkitt lenfomada %6, renal (Wilms) tümörlerde %5 ve Hodgkin lenfomalarda %3 oranında görülmektedir (Siegel, Miller & Jemal, 2016). Primer tümörler; nöroepitelyal orijinliler, meningeal tümörler, kranyal ve spinal sinir tümörleri, lenfoma ve hematopoietik neoplaziler, germ hücreli tümörler ve sellar bölge tümörleridir.

Amerika'da bulunan Central Brain Tumor Registry of the United State (CBTRUS, <http://cbtrus.org>) programında 1998-2002 yılları arasında yapılan bir araştırmaya göre göre tüm primer malign ve benign beyin tümörleri ile merkezi sinir sistemi tümörleri yılda 100,000 kişi içerisinde her 14,800 kişide görülmüştür (Sawaya ve Alfred Yung., 2007). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansının (International Agency for Research on Cancer) 2008 kanser raporunda yaklaşık 13 milyon insanda kanser görülmüş ve yaklaşık 8 milyon insanın hayatını kaybettiği bildirilmiştir. Araştırmada beyin kanseri vakalarının her 100.000 kişiden 238'inde görüldüğü ve sadece 64'ünün hayatta kalabildiği rapor edilmiştir. Beyin kanseri diğer kanser çeşitlerine göre görülme sıklığı en az fakat ölüm oranı yüksek kanser çeşididir (Ferlay ve ark. 2010). Beyin kanseri tümörleri birkaç çeşit olmakla birlikte Dünya Sağlık Örgütü glioblastoma kanser hücrelerini astrosit, nöroblastoma kanser hücrelerini ise doğumdan sonraki ilk yıllarda

kaybolan embriyonel (totipotent ve pluripotent) beyin tümörü sınıfı içerisine dahil etmektedir (Vescovi ve ark. 2006).

Bebeklik çağında görülen nöroblastom en fazla 2 yaş altı çocuklarda görülmekte ve Ulusal Kanser Araştırmaları Enstitüsü'ne göre, her bir milyon çocuktan % 9,5'inde görülmektedir. Avrupa'da ise bu değerin yaklaşık iki katı olduğu ve yılda yaklaşık 1500 vaka tespit edildiği görülmüştür (Saydere 2009; Spix vd 2006). Nöroblastom bir yaş altında gerileyebilmekte fakat ilerlemediği durumlarda metastaz yapabilmektedir (Brodeur 2003; Saydere 2009; Toğar 2013). Nöroblastik tümörlerin en sık metastaza uğradığı bölgeler lenf nodları, karaciğer, kemik iliği ve kemiklerdir (Sugiura vd., 1998). Nöroblastomda ırk ve cinsiyet faktörü büyük bir etki etmezken hastalığın ilerleme derecesi, annenin hamilelik esnasında kullandığı ilaçlar, annenin yaşı, annenin hormonal durumu, radyasyona maruz kalma, sigara ve alkol kullanımı, art arda sezeryan gerçekleştirmiş olması büyük bir rol oynamaktadır Nöroblastom tanısında çocuklarda ateş, kilo kaybı, aşırı terleme, iştah kaybı, kızarıklık ve baş ağrısı gibi durumlar etkilidir (Maris 2007, Toğar 2013).

1973 yılında nöroblastoma hastası olan 4 yaşındaki kız çocuğunun kemik iliğinden elde edilen SK-N-SH hücre hattının alt kültürleri oluşturularak SH-SY ve nöron modeli olarak kullanılan SH-SY5Y hücre hatları oluşturulmuştur (Spinelli vd. 1982).

SK-N-SH hücre hattı aracı (I tipi), nöral (N tipi), Schwannian (S tipi) fenotipli hücrelerden oluşurken SK-N-SH'ın alt klonu olan SH-SH5Y hücre hattı yüzen N tipi (nöroblast benzeri) hücre ve yapışkan S tipi hücre hatlarından oluşur (Joshi vd., 2006). Farklılaşmamış SH-SY5Y hücre hattı farklılaşmış olanlara göre daha kısa, kesikli çıkıntılara ve daha büyük hücre gövdelerine sahiptirler ve kümeleşmişlerdir. SH-SY5Y hücre hattı astrosit türevli olmasından kaynaklı olarak yıldız şeklindedir. Farklılaştırılmış SH-SY5Y hücre hattı nöron benzeri hücrelere benzeyerek, sinir hücresi uzantılarının (nörit) oluştuğu, nörona benzer aktivitelerde artma ve polarize özellikler edindiği görülmüştür (Yuan vd., 2017; Pak vd., 2014; Constantinescu vd., 2007). SH-SY5Y nöroblast benzeri hücreler, parental nöroblastoma hücre dizisi SK-N-SH'ın bir alt klonudur. Parental hücre hattı, 1970 yılında hem nöroblast benzeri hem de epitel benzeri hücreleri içeren bir kemik iliği biyopsisinden üretilmiştir (Shipley vd., 2016). Çalışma farklılaşmamış SH-SY5Y nöroblastom hücreleri, dışa doğru uzanan çok sayıda kısa uzantıya sahip büyük, düz, epitel benzeri bir fenotip gösterirken, farklılaşmış hücreler çevredeki hücrelere bağlanan birkaç nöritik çıkıntıya sahiptir.

2.3. Apoptoz

Yunanca'da apo (ayrılma) ve ptosis (düşme) kelimelerinden oluşmuş ve ağaçtan düşen yaprak anlamına gelen apoptoz Carl Vogt tarafından 1842 yılında tanımlanmıştır (Peter ve ark. 1997). 1920'li yıllarda "nekroz büzüşmesi" olarak adlandırılırken 1960'lar da elektron mikroskopisi sayesinde 1964 yılında Lockshin ve Williams tarafından programlı hücre ölümü olarak tanımlanıp, ilgili araştırmalar yapılmış olup, 1972 yılında ise Kerr ve ark. tarafından ilk kez apoptoz terimi kullanılmış ve günümüze kadar taşınmıştır (Majno vd., 1995; Otsuki vd., 2003; Özvaran 2004; Yılmaz 2005).

Evrendeki tüm canlılar doğum, büyüme ve ölüm evrelerinden geçerek ömürlerini tamamlarlar. Canlılarda çoğalma (poliferasyon) ve ölüm olduğu gibi poliferasyon ve ölüm arasında da bir denge olmak zorundadır. Tek hücreli

organizmalılarda ölüm bir tek apoptoz ile sağlanırken çok hücreli organizmalarda vücudun şekillenmesinde örneğin parmak aralarındaki dokunun apoptoza uğrayarak parmakların açığa çıkmasında, omurgalı canlılarda ise embriyonik dönemde sayıca fazla olan nöron ve oligodentrositler apoptoz mekanizması ile istenmeyen hücreleri ölüme götürülmesiyle dengede tutulur (Lumachi ve Basso 2002; Ameisen 2002; Shield ve Mirkes 1998).

2.3.1 Apoptozun düzenlenmesi

Hücrenin yaşam süresi ve tipine göre değişmekte olan apoptoz adenosin trifosfat (ATP) miktarının azaltılıp enerji kullanılarak, genetik olarak gerçekleşeceği zamanı kontrol edilebilen 30-60 dk süren bir savunma mekanizması ve programlı bir hücre ölümüdür (Ersöz 2007; Coşkun ve Özgür 2011; Ersöz 2012). Apoptoz merkezi sinir sisteminin şekillenmesinde, metamorfozda, parmakların arasındaki dokunun ortadan kalkmasında, tümör oluşumunda, hücre içi kalsiyum dengesinin bozulması, Parkinson ve Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda, diyabet, bağışıklık sistemi hastalıklarında, oksidatif stres, büyüme faktörlerinin eksikliği, hipoksi, UV, ilaçlar, hermafroditik formdan yetişkin forma geçmede, AIDS...vb. durumlarda indüklenir (Kannan vd., 2000; Herrmann ve Kalden 2003). Hücrelere giren yabancı maddelerden dolayı hücre strese girerek Bcl-2 ailesi tarafından salınan apoptotik süreç için geri dönüşü olmayan sitokrom c'nin sitoplazmaya salınması ve apoptoz uyarıcı faktör (AIF)'ün salınmasını tetikler (Chang vd., 2000; Hu 2003; Kumar vd., 2005).

2.3.2. Apoptozda rol oynayan önemli moleküllere yakından bakış

2.3.2.1. B-hücreli lenfoma 2 (bcl-2) ailesi

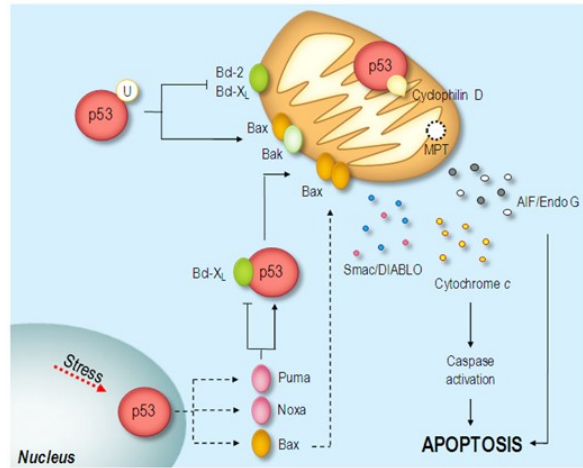
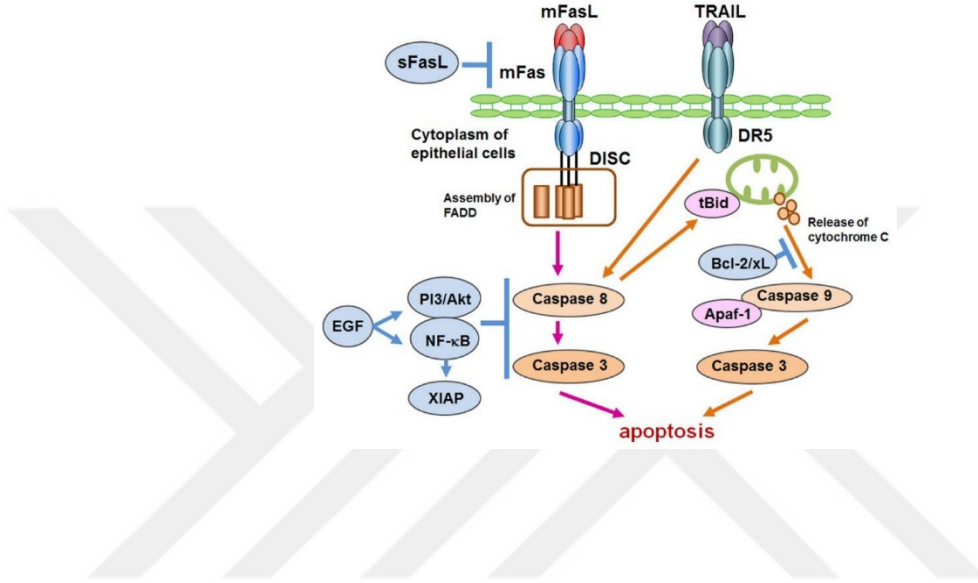
Bcl-2 ailesi proapoptotik ve antiapoptotik üyelerden oluşan protein ailesidir. Bu üyelerden proapoptotik proteinlerin fazla olması durumunda hücre apoptoza eğilimli, antiapoptotik proteinlerin fazla olması durumunda ise apoptoza daha az eğilimli hale gelir (Adams ve Cory 2001). Apoptozu indükleyen yani proapoptotik üyeler; BHRL-1, Bcl-xl, Bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1, Bcl-2 iken apoptozu baskılayan yani antiapoptotik üyeler; Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, bid, bik, Hrk1'dir. Organizmalardaki poliferasyon/ölüm dengesinin bir düzen içinde denge oluşturarak ilerlemesi apoptoz mekanizmasında apoptozu baskılayan gen Bcl-2 ve apoptozu indükleyen gen bax oranı ile doğru orantılıdır. Bcl-2/bax oranı hücrede apoptoz gözlenip gözlenmediğine dair bilgi vermekte olup Bcl-2 oranı daha fazla ise apoptoz baskılanır, bax oranı fazla ise de apoptoz indüklenir (Vousden vd., 2002; Alenzi vd., 2010).

Çizelge 2.2 BCL-2 ailesinden apoptozu baskılayan ve indükleyen genler

Apoptozu Baskılayan Genler	Apoptozu İndükleyen Genler
Bcl-2 ailesinden; BHRL-1, bcl-xl, bcl-w, bfl-1, brag-1, mcl-1, A1, bcl-2	Bcl-2 ailesinden; Bad, Bax, Bak, Bcl-xS, bid, bik,

	Hrk1
--	------

Ölüm sinyalinin önce sitozol ve hücre iskeletinde bulunan proapoptotik üyeler değişime uğrayarak mitokondriyal membranı hedef alarak birleşirler ve mitokondri membranındaki porların açılmasıyla birlikte sitokrom-c salınır (Şekil 2.5.) (Gross vd., 1999; Preisler vd., 2000).



Şekil 2.5. Apoptoz mekanizması ve apoptoz mekanizmasında rol oynayan moleküller (Pitolli vd., 2019).

Bcl-2 ailesi üyelerinin aktivasyonları; dimerizasyon, fosforilasyon, proteolitik bölünme ve translokasyon ile gerçekleşir (Sprick vd., 2004). Dimerizasyon mekanizması aktif veya inaktif Bcl-2 üyeleri arasındaki etkileşimle açıklanırken fosforilasyon mekanizmasında ise Bad'ın defosforile olmasıyla birlikte antiapoptotik Bcl-2 üyelerine bağlanarak hücreyi apoptoza yönlendirir (Downward 2004; Gross vd., 1999; Matsuzawa ve Ichijo 2001). Proteolitik bölünmede sadece BH3 alanı bulunduran Bid sitoplazmada inaktif durumdayken Fas'ın Kaspaz-8'i aktive etmesiyle birlikte Kaspaz 8'in Bid'i bölüp hücrenin apoptozuna neden olur (Burlacu 2003; Kumar vd., 2005; Gross vd., 1999). Translokasyonda ise sitozolde bulunan Bax'ın Bax-Bax homodimeri oluşturarak mitokondriye geçişi sağlanır (Burlacu 2003).

2.3.2.2. Tümör Baskılayıcı Protein 53 (p53)

1979 yılında keşfedilen 53 kDa moleküler ağırlığa sahip olan TP53 geni keşfedildiği ilk yıllarda tümörögenezi tetikleyen bir onkogen olarak tanımlansa da yapılan çalışmalar neticesinde önemli bir tümör baskılayıcı gen (TSG) olduğu açığa çıkarılmıştır (Zilfou ve Lowe 2009).

P53, G1'den S fazına geçişi düzenleyerek DNA'da hasar olduğu sırada hasarın tamirinde DNA gardiyanı olarak rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür, tamir edilemeyecek duruma geldiğinde ise apoptoz başlar (Offer vd., 2002). P53, birçok hücrel olayda yer almakla birlikte DNA tamiri ve sentezi, hücre farklılaşması, onkogen aktivasyonu, senesens ve otofajik cevabının düzenlenmesi, plastisite, hücre döngüsü gibi birçok olayda rol oynamaktadır (Schmid vd., 2001; Green ve Kroemer 2009).

2.3.2.3. Kaspazlar

Kaspazlar (Cysteine Aspartate Specific Proteases) hücrenin apoptoza gitmesini engelleyen proteinleri inaktive ederek apoptozu tetikleyen korunmuş proteaz ailesidir (Yerlikaya ve Dokudur 2009). Ölüm sinyalleri Tümör Nekroz Faktörü (TNF) reseptörünün üst ailesi olmakla birlikte hücre içinden mitokondri ve endoplazmik retikulum aracılığı ile de gönderilebilir (Rust ve Gorez 2000; Gregory ve Adler 2000). Kaspazlar, başlatıcı kaspazlar (kaspaz -2, -8, -9, -10), efektör kaspazlar (kaspaz -3, -6, -7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz 1, -4, -5, -11, -12, -13, -14) olmak üzere 14 ayrı kaspaz olmak üzere 3 gruba ayrılır (Adams ve Cory 2001). Farklı fonksiyonları olmasına rağmen kaspazlar kendi gruplarına ait olmayan özellikleri de taşıyabilirler. Hücre içinde inaktif halde bulunan monomerik prokaspaz -1, -8, -9 bir protein iskelesine bağlanıp dimerize olarak veya parçaları arasındaki bağlantının kopması ile aktif hale gelirler (Julien ve Wells 2017; Salvesen ve Riedl 2008; Vajjhala vd., 2015). Hücre içinde inaktif dimer halinde bulunan prokaspaz -3, -6, -7 ise parçaları arasındaki bağlantıyı kendileri ya da başlatıcı kaspazlar yoluyla kopması ile aktif hale gelirler (Vajjhala vd., 2015).

2.3.3. Apoptoz Mekanizması

Apoptoz mekanizması ekstrinsik yolak ve intrinsik yolak olmak üzere iki yolak aracılı ile gerçekleşir. Hücrenin diğer hücrelerden gelen sinyaller sebebiyle ölüme

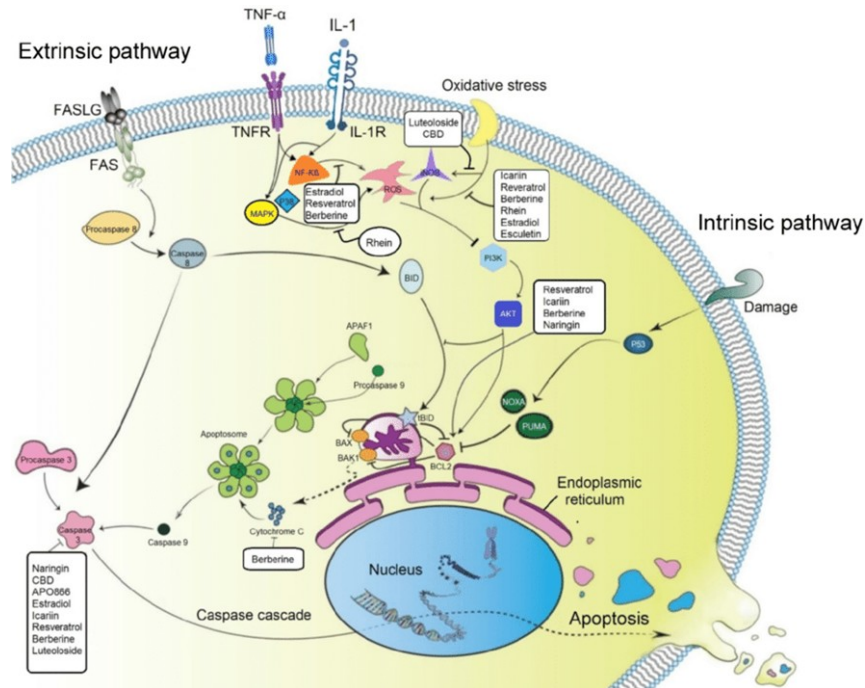
gitmesi ekstrinsik yolak ile gerçekleşirken, intrinsik yolakta hücre stresi algıladığı için kendini öldürür (Raychaudhuri 2010).

2.3.3.1 Ektrinsik Yolak

TNF, FAS-L ve TRAIL ölüm ligandları dışarıdan gelen uyarılara karşı üçlü bileşim oluşturup başka bir hücredeki hedef reseptörlerine bağlanarak apoptoz yolağını oluştururlar (Chinnaiyan vd., 1995). FAS'ın adaptör kısmına FADD bağlanarak DISC oluşur ve pro-kaspaz 8 aktifleşerek kaspaz 8 haline gelir, eğer FADD yerine FLIP bağlanır ise pro-kaspaz 8'in aktif hale gelemes ve hücrenin apoptoza gitmesi engellenir (Chinnaiyan vd., 1995; Nagata 1997; Nagata 1999). Kaspaz 8'in aktifleşmesi ile birlikte BID kesilir ve mitokondriyal (intrinsik) yolak da görev alan antiapoptotik Bcl-2/Bcl-x'i inhibe ederek BAX/BAK kanallarının oluşması ile sitokrom-c'nin sitoplazmaya salınması ile mitokondriyal yolak başlar.

2.3.3.2 İntrinsik Yolak

Mitokondriden Bcl-2 geni ile sitokrom-c'nin salınması ile birlikte Apaf-1'e bağlanarak Apaf-1'i aktive eder ve ATP'nin de yapıya katılmasıyla heptadimerik apoptozom kompleksi oluşur (Öztürk 2002). P53 pro-apoptotik (bcl-2, bcl-x, BAX, PUMA) proteinlerin ifadesini arttırarak bcl-2, bcl-x'in Mcl-1'e bağlanarak PUMA ve NOXA'nın BAX ve Bak'ı denetler (Adrain vd., 2001). Apoptozom kompleksindeki APAF-1 prokaspaz-9'un kuyruk kısmını kopararak aktif kaspaz-9 haline getirir ve diğer efektör kaspazları da aktive eder (Kumar vd., 2005; Adrain vd., 2001). Aktif kaspaz-9 prokaspaz-3'ü aktive ederek kaspaz-3 olarak aktifleştirir ve aktif kaspaz-3 ise sonlandırıcı kaspazları (prokaspaz-2, prokaspaz-6) aktive eder (Chang ve Yang 2000; Peter 1997). Aktifleşen kaspaz-6, prokaspaz-8 ve prokaspaz-10'u kuyruğundan kopararak aktive etmesiyle birlikte dönüşümsüz apoptoza yol açar (Şekil 2.6.) (Earnshaw 1999; Gewies 2003; Peter 1997).

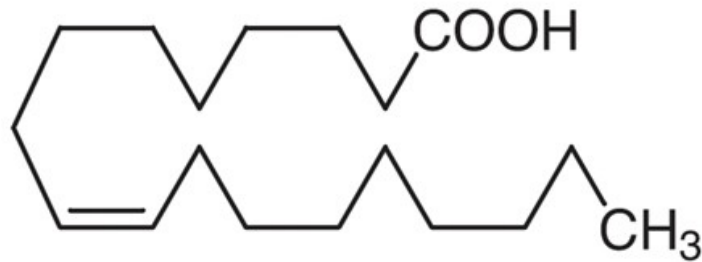


Şekil 2.6. Apoptoz mekanizmasında gözlenen ekstrinsik yolak ve intrinsik yolak (Kamali vd., 2021).

Çok hücreli canlılarda hücre üretiminin gerekli olduğu kadar dengenin oluşabilmesi için hücre ölümü de gereklidir. Kanser hastalığının tedavisinde kullanılan kemoterapi ve radyoterapide kanser hücreleri apoptoza gitmediği zaman tedaviye yanıt vermez (Igney ve Krammer 2002). Kanser hastalığına karşı tedavilerin artması ve kanser hücrelerini apoptoza götürebilecek tedavi yöntemlerinin halen genişletilmesine ve yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasına devam edilmektedir.

2.4. Oleik Asit

Beyin metabolik faaliyetlerini sürdürebilmek için kolestrole ihtiyaç duyar ve bu yüzden de yüksek miktarda kolesterol içerir (Chang vd. 2009; Yehuda vd. 2005; Youdim vd. 2000). Beynin yapısında da bulunan yağ asitleri beyni oluşturan glial, astrosit ve oligodendrosit hücrelerinden astrosit hücreleri tarafından sentezlenmektedirler (Bourre 2004; Yehuda vd. 2005). Yağ asitleri tek bir karboksil grubu içermekle birlikte hücrenin yapısına katılarak hücreye enerji sağlarlar ve fizyolojik olaylarda rol oynarlar (Şekil 2.7.) (Burdge ve Calder 2015; Niki 2014; Wang vd. 2014). Lineloik asit ve α -lineloik asit diyet yağlar olup çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) sentezinde rol alırlar. (Arterburn vd. 2006; Carrie vd. 2000; Youdim vd. 2000). Tüm yağ asitlerinin kanser oluşumunu tetiklediği gözlenirken çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) kanseri önleyici bir rolü olduğu bilinmektedir (Notarnicola vd., 2017; Pizato vd., 2018). PUFA'lar n-3(kanser oluşumunu azaltıcı) ve n-6 kanser oluşumunu artırıcı) özellikleri ile bilinmesiyle birlikte 72.000'den fazla katılımcı ile yapılan bir diyet çalışmasında n-3'e kıyasla n-6 PUFA tüketen katılımcıların meme kanseri risklerinin arttığı gözlenmiştir (Chajes vd., 2008; Escrich vd., 2008).



Şekil 2.7. Oleik asidin moleküler yapısı.

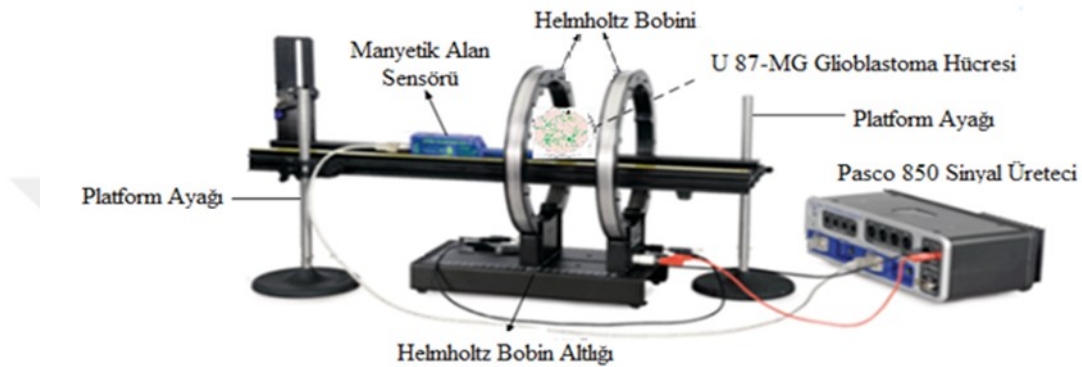
Zeytinyağının bir bileşeni olan oleik asit (OA) çoklu doymamış yağ asitlerine mensuptur ve aksonal büyüme ve aksonal büyümeyi teşvik eden proteinlerin ekspresyonunda nöronlar tarafından fosfolipidlerin sentezinde, kanser hücrelerinin büyümesini engellemektedir ancak metastazı yüksek olan kanser hücrelerinde durum tam tersi olup hücre ölümünü indüklemektedir (Xie vd., 2016; Parisi vd., 2018; Li vd., 2014;).

Oleik asidin kanser hücrelerine etkileri hücreden hücreye değişmektedir (Sales - Campos vd., 2013; Maan vd., 2018). Kanser hücreleri metabolik faaliyetlerini gerçekleştirmek için lipidlerin de enerji kaynağı olmasından faydalanarak tümör baskılayıcı genler ile faaliyet gösterirler. Lipidlerin çift katlı membranı sayesinde kanserde aktif bir rol oynayabileceği söylenmiştir. Yüksek yağlı diyet ile yapılan bir çalışmada melanom hücrelerinde tümör büyümesi gerçekleştiği görülmüştür (Cimini vd., 2005). Hep3B ve Huh7.5 HCC hücre hatları ve sağlıklı karaciğer insan hücre hattı (THLE) oleik asit ile tedavi edildiğinde HCC hücre hatlarında sağlıklı hücreye kıyasla daha fazla lipid birikimi, hücre canlılığında azalma ve apoptozu indüklediği gözlenmiştir (Giulitti vd., 2021). Başka bir çalışmada hepatosit hücre dizilerinin (LO2, HepG2) 48 saat boyunca oleik asit ile tedavisinin, hücre canlılığının azalmasıyla ilişkili büyük bir lipid birikimine yol açtığı gösterilmiştir (Yao vd., 2011). Oleik asit ile tedavi edilen primer tiroid squamöz hücreli karsinom (TSCC) hücrelerinde (CAL27, UM1) apoptotik proteinlerden cyclin-D1 ve bcl-2 ekspresyonunda azalma, p53, caspase 3 ekspresyonunda ise artış gözlenmiştir (Jiang vd., 2018).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. PEMF Devre Tasarımı

Darbeli elektromanyetik alan (PEMF) devresinin Helmholtz bobini (EM-6715), manyetik alan sensörü (PS-2162), elektromanyetik alan üretici (Pasco; UI-5000) ve Pasco Capstone Yazılımı (UI-5400) Pasco (Kaliforniya, ABD)'dan satın alınmıştır. Helmholtz bobini, manyetik alan sensörü, Pasco 850 sinyal üretici ve diğer ara parçalardan oluşan PEMF cihazının ana şeması Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



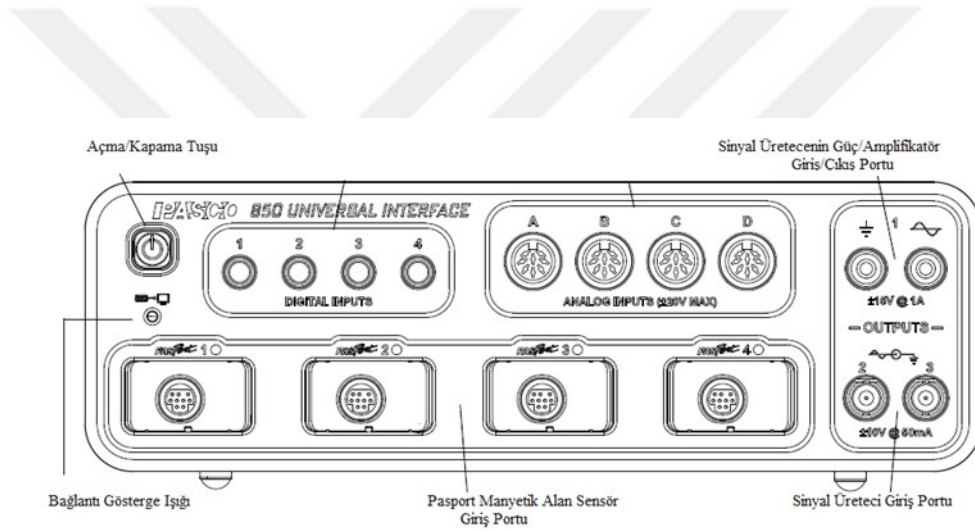
Şekil 3.1. Manyetik alan sağlayan helmholtz bobin çifti, bobinlerin sabitlendiği helmholtz bobin altlığı, platformun sabitlenmesini sağlayan platform ayakları, bobinlere elektromanyetik alan sağlayan Pasco 850 sinyal üretici, manyetik alanı ölçen manyetik alan sensörü ve PEMF'ye maruz bırakılan SH-SY5Y insan nöroblastoma hücrelerini içeren ve petri kabından oluşan Darbeli Elektromanyetik Alan (PEMF) Düzenegi.

PEMF devresinin güç kaynağı olarak Çizelge 3.1'deki özelliklere sahip Pasco 850 Universal Interface model sinyal üretici (Pasco- 012-12355B) kullanılmıştır (Şekil 3.1.).

Helmholtz bobinlerinin kalınlığı 1.6 cm, iç yarıçapı 10.06 cm ve dış yarıçapı 11.37 cm olmak üzere, 500 sarımlı yalıtılmış bakır tellerden meydana gelmektedir. Homojen manyetik alan oluşturulabilmek adına bobinler Şekil 3.2.'de gösterildiği gibi birbirlerine paralel olarak bakacak şekilde helmholtz bobin altlığına sabitlenerek yerleştirilmiştir. Şekil 3.2.'de gösterilen PEMF devresinin sinyal üretici (Signal Generator) ve üç farklı sinyal değerini (850 Output 1, 2, 3) kaydedebilen Pasco Capstone Yazılımı ile bağlantısı bilgisayar ortamında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4.). Sensörün üstünde bulunan aralık seçme tuşuyla 1x (± 1000 gauss), 10x (± 100 gauss) ve 100x (± 10 gauss) olarak seçilebilen 3 manyetik alan aralığı bulunur.

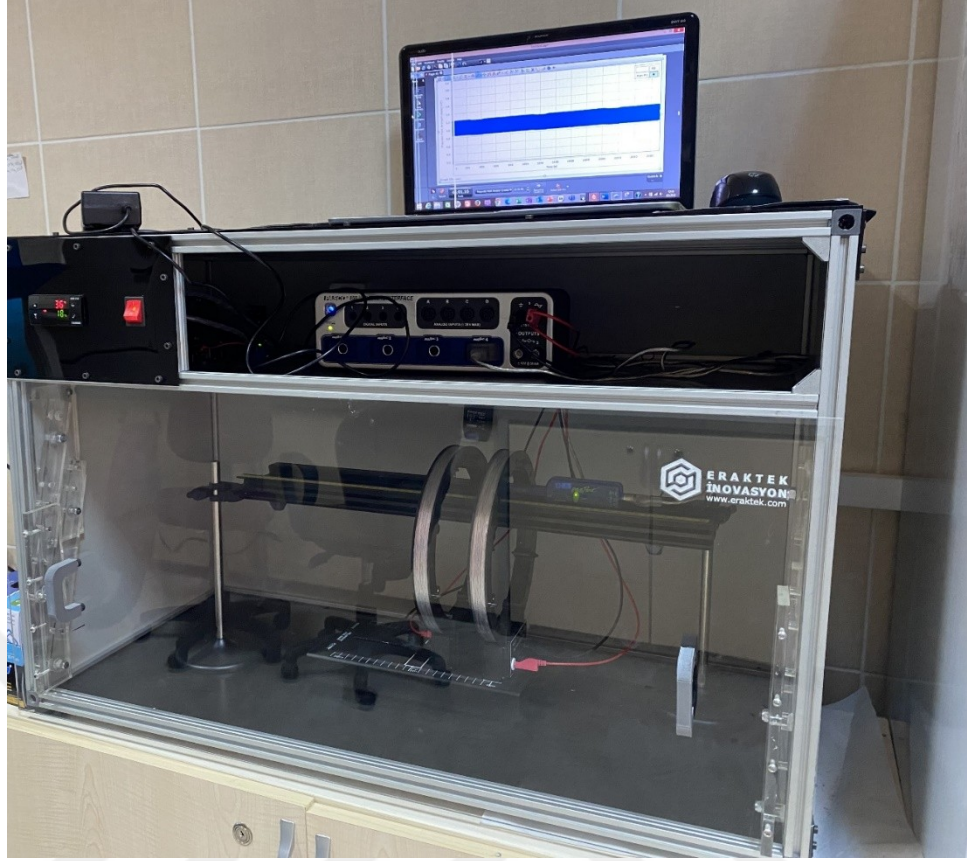
Çizelge 3.1. Pasco 850 Universal Interface model sinyal üreticinin özellikleri

Dalga Şekilleri	Sinüs Dalga, Kare Dalga, Üçgen Dalga, DC, Pozitif-Negatif Rampalar
Alternatif Akım Voltajı (Alternative Current Voltage) (AC) Besleme	250V
Doğru Akım Voltajı (Direct Current Voltage) (DC) Besleme	12V
Güç Harcanması	15W
Frekans Aralığı	0.01Hz-100kHz
Maksimum Çıkış Akımı	15V
Çıkış Akım Ölçümü	10V

**Şekil 3.2.** Pasco 850 Universal Interface model sinyal üretici.

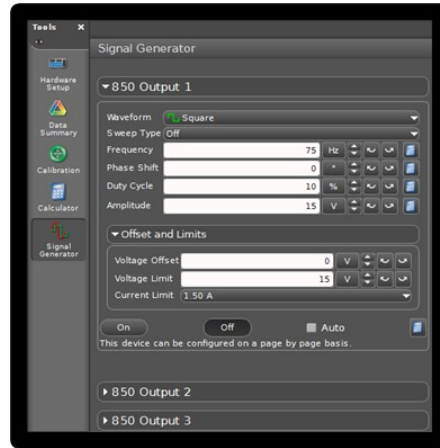
Sensör algılama unsuru olarak probun ucunda birbirlerine dik olarak bulunan Hall Effect aparatlarını kullanır. Aparatın biri probun uzunluğuna paralel olan axial (eksenel) olan hatlarına duyarlı iken diğer aparat ise proba dik olan radial (radyal-dairesel) hatlarına duyarlıdır. Sensörün üst kısmındaki RADIAL/AXIAL anahtarı sensörün yönünü seçer ve bu sebepten dolayı manyetik alanları aynı anda ölçmek imkansızdır.

Ek olarak; sensörün üstünde bulunan TARE butonun sensör çıkışının sıfırlanmasını sağlar. Probdaki Hall Effect aparatı hiçbir manyetik alana maruz kalmadığı zaman TARE butonuna basarak sensör tipik olarak sıfırlanır. Sıfırlama sensörü 100x (± 10 gauss) oranında iken isteğe bağlı olarak EM-8652 Zero Gauss Chamber dünyanın manyetik alanının etkisini gidermek için kullanılabilir.



Şekil 3.3. PEMF devresinin sinyal üretici (Signal Generator) ve Pasco Capstone Yazılımı ile bağlantısı.

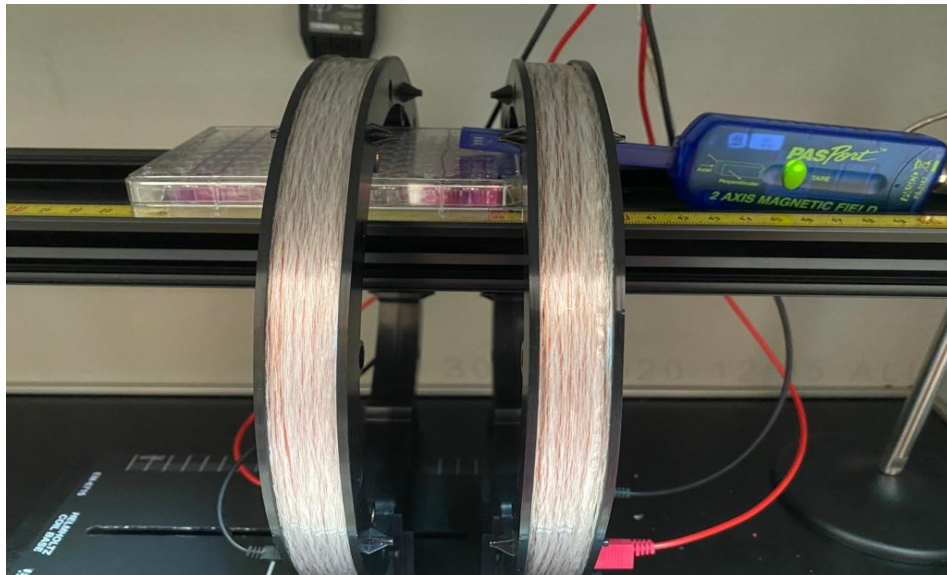
Pasco Capstone Yazılım programında, PEMF devresinin dalga formu (waveform) kare dalga (square) seçilmiş olup frekans süpürme işlemi (sweep type) kapalı formda ve faz kaydırma (phase shift) açısı da 0° derece olarak belirlenmiştir. Frekansı 75 Hz, dalga genlik değeri (amplitude) 15 V ve elektromanyetik dalganın görev döngüsü (duty cycle) periyodu %10 olacak şekilde değerler 850 Output 1 çıkış penceresine girilmiştir. Ayrıca helmholtz bobinleri besleyen elektrik akımı (current limit) 1.5 amper (A), limit gerilim değeri (V) (voltage limit) 15 V, topraklama gerilim değeri (voltage offset) 0 V olarak yazılımın “Ofset ve Limitler (Offset and Limits)” penceresi yardımıyla belirlendikten sonra manyetik alan sensörü açılmıştır (Şekil 3.4).



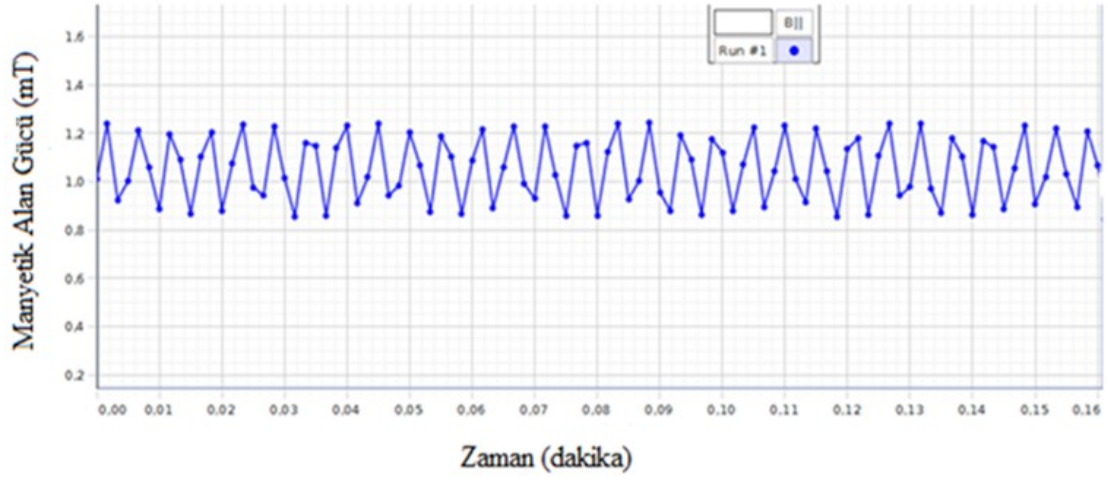
Şekil 3.4. Pasco 850 Capstone Yazılımı Ara yüzü.

Pasport manyetik alan sensörü (Şekil 3.5.a) yardımıyla ilk 0.16 dakika boyunca (Şekil 3.5.b) dikey (aksiyal) yöndeki manyetik alan değeri Pasco 850 Capstone Yazılımı kullanılarak 1 ± 0.2 mT olarak ölçülmüştür. Çalışmada PEMF maruziyet süresi 15 dakika olacağından (Şekil 3.3.) helmholtz bobinlerin oluşturduğu manyetik alan ayrıca 15 dakika (Şekil 3.5.c) süreyle ölçülmüş ve 1 ± 0.2 mT manyetik alan sinyalleri kayıt altına alınmıştır. Ayrıca, PEMF maruziyetinin olası termal etkisinin engellenmesi için maruziyet ortamının sıcaklığı düzenli olarak kontrol edilmiş ve PEMF maruziyetinden kaynaklı herhangi bir sıcaklık artışı tespit edilmemiştir (Şekil 3.3.).

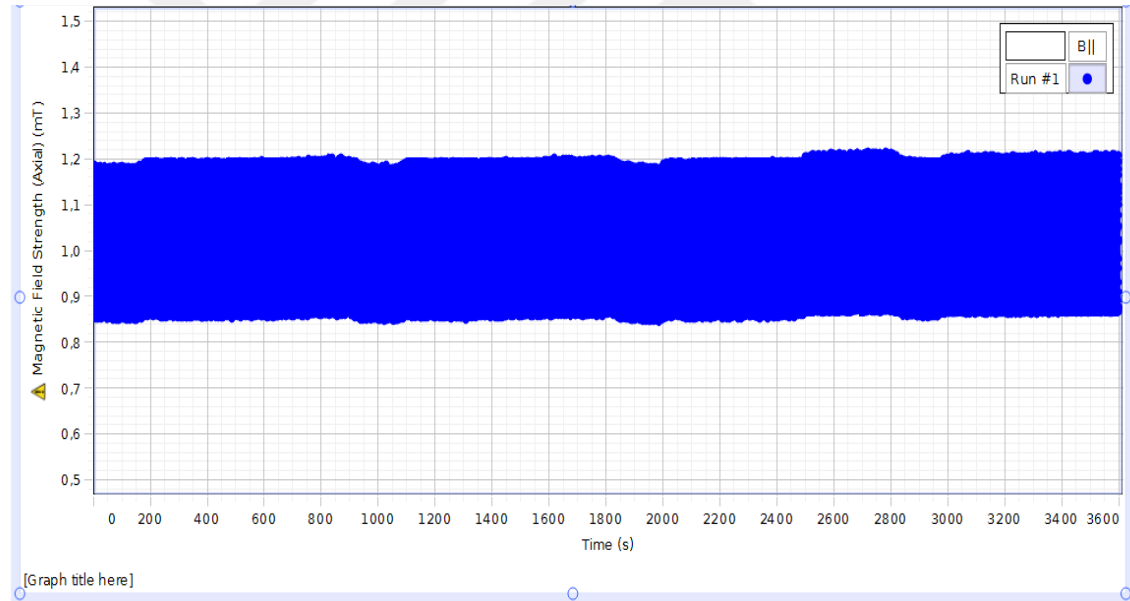
a)



b)



c)



Şekil 3.5. a) Bobinlere eş uzaklıkta dikey (aksiyel) ekseninde yerleştirilen manyetik alan sensörü, **b)** ilk 0.16 dakikadaki ve **c)** 12sa sıkıştırılmış 1 ± 0.2 mT manyetik alan sinyallerinin Pasco Capstone Yazılım ile elde edilen manyetik alan dalga sinyalleri.

3.2. *In Vitro* Sitotoksisite Çalışmaları

3.2.1. Kimyasallar

Pierce plus protein assay kit (Thermo Fisher 23236), PureZOL RNA isolation reagent (7326890), iScript cDNA synthesis kit 100 reactions (1708891), iTaq Universal SYBR Green Supermix SMX500 (1725121), Microseal B Adhesive Seals 100 (MSB1001), SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattı (ATCC CRL-2266), Eagle Minimum Temel Ortamı (EMEM) (BI01-025-1A), Fetal Sığır Serumı (FBS) (BI 04-121-1A), Tripsin Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (Tripsin EDTA) (BI 03-053-1B), Penisilin-streptomisin (BI 03-031-1B), Tuzlu fostat tamponu (PBS) (sigma - Aldrich p4417-50TAB), Alamar blue (invitrogen DAL1100).

3.2.2. Hücre Kültürü

Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu'ndan (ATCC, Missouri, ABD) temin edilmiş olup -80°C'de muhafaza edilmekte olan SH-SY5Y insan nöroblastoma hücresi ve insan sağlıklı HaCaT epidermal hücresi, deney öncesinde 37°C'deki su banyosunda (Nüve) çözdürülerek besi ortamı ile birlikte (%10 DMEM-F12-%10 DMEM, %10 fetal sığır serumu, %1 L-Glutamin, %1 penisilin-streptomisin) T75 flaskta (Corradin vd. 1993) %5 CO₂ içeren 37°C sıcaklıkta, %95 nem ortamındaki steril inkübatörde (Reale vd. 2014) inkübe edilmiştir.

3.2.3. Hücre Grupları

SH-SY5Y insan nöroblastoma hücreleri aşağıdaki şekilde her bir grupta n=6 olacak biçimde altı deneysel gruba ayrılmıştır:

Grup 1: Kontrol grubudur (Oleik asit ve PEMF maruziyetinin uygulanmadığı SH-SY5Y hücre hattı),

Grup 2: Oleik asit maruziyetine bırakılan ve PEMF maruziyetinin uygulanmadığı SH-SY5Y hücre hattı,

Grup 3: Oleik asit muamelesinin ardından 15 dk, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan SH-SY5Y hücre hattı,

Grup 4: Oleik asit muamelesinin ardından 12 saat, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan SH-SY5Y hücre hattı,

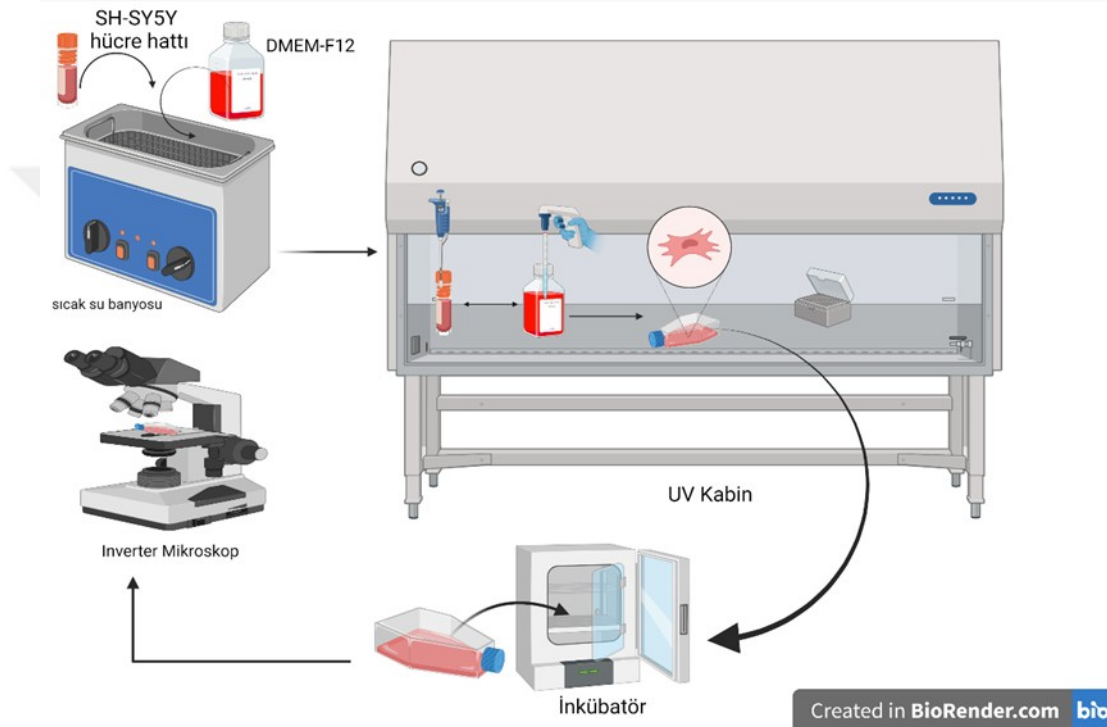
Grup 5: 15 dk, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan SH-SY5Y hücre hattı,

Grup 6: 12 saat, 75 Hz-1±0.2 mT PEMF maruziyetine bırakılan SH-SY5Y hücre hattıdır.

3.2.4. Sitotoksosite Deneyleri

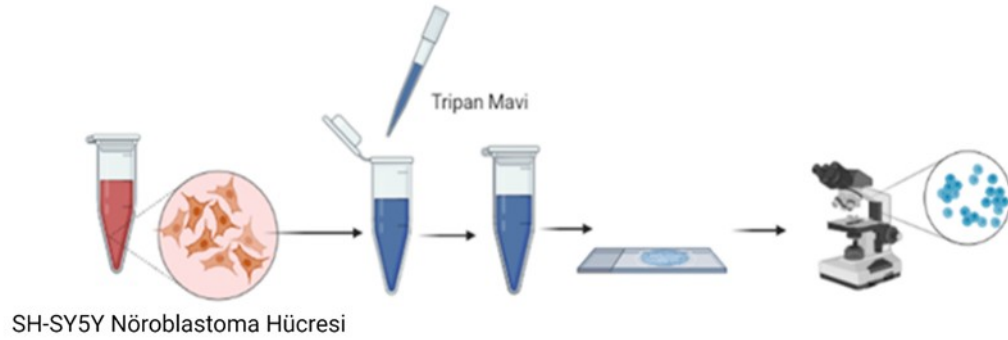
3.2.4.1. SH-SY5Y hücre hattının oleik asit ile maruziyeti

In vitro hücre kültürü çalışması için, öncelikle uygun yoğunluğa ulaşan hücrelerin T75 büyüme kapları yüzeyinden ölü hücrelerin uzaklaştırılması amacıyla 10 mM tuzlu fosfat tamponu (PBS) ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiş ve PBS kabin köşe kısmından dikkatlice çekilmiştir. Ardından T-75 hücre kaplarına hücreleri büyüme kaplarının yüzeyinden ayırmak için 2 ml Tripsin-EDTA (%0.25 tripsin-%0.53 EDTA) eklenmiş olup, 5 dakika boyunca %5 CO₂ içeren 37°C sıcaklıktaki inkübatörde inkübe edilmiştir.

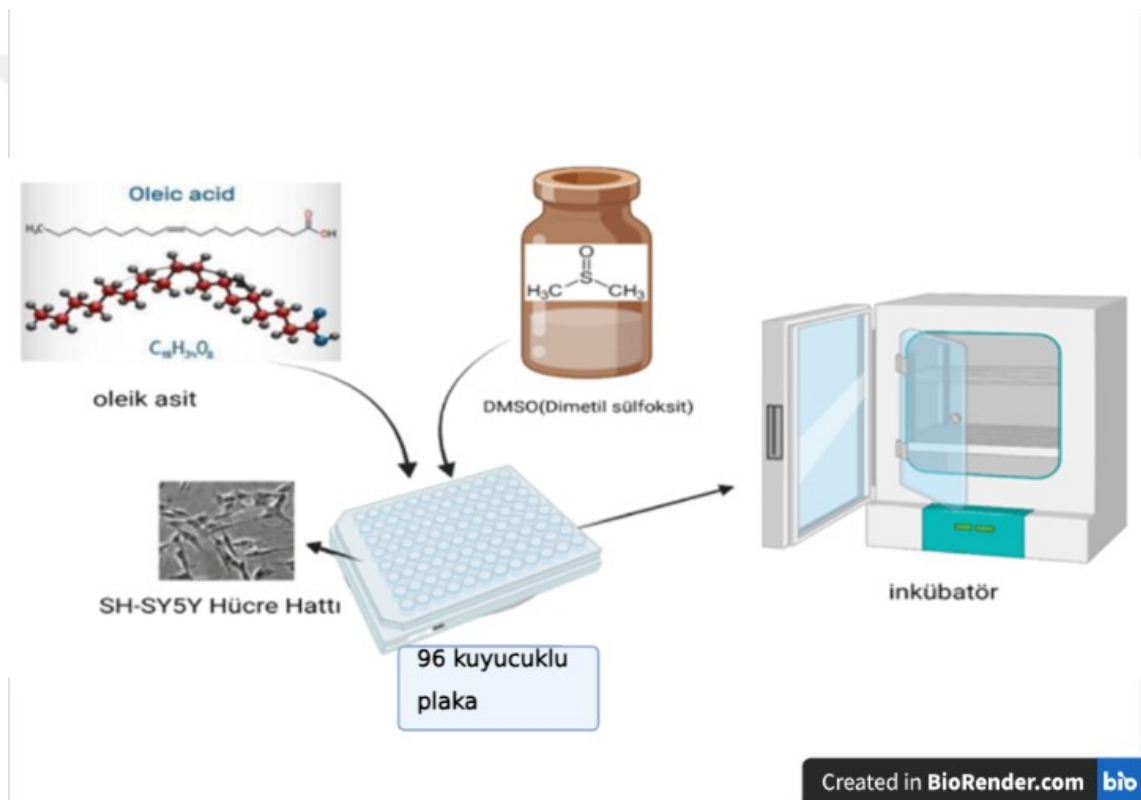


Şekil 3.6. En yüksek IC₅₀ değerine sahip olan SH-SY5Y hücresi üzerindeki sitotoksosite deneyinin şematik gösterimi.

T-75 büyüme kaplarının yüzeyinden ayrılan hücrelerin petri yüzeyine tutunması gerekli olduğundan hücrelerdeki Tripsin-EDTA solüsyonunun inaktive edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, hücrelere 8 mL DMEM-F12-DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium-high glucose) besiyeri eklenince hücreler petrilere ekim işlemi için hazır hale gelmiştir. Daha sonrasında ise canlı hücre sayısını belirlemek amacıyla hücrelerin 10 µl'si, canlı hücrelerin sitoplazmasını berrak, cansız hücrelerin sitoplazmasını mavi renkte gösteren %0.4 tripan mavisi ile süspanse edilerek thoma lamı yardımıyla manuel olarak ışık mikroskobu (Nikon, Melville, ABD) altında canlı hücrelerin sayımı gerçekleştirilmiştir. Sayımları gerçekleştirilen hücrelerin 96 kuyucuklu plakalara ekimleri yapılmıştır.



Şekil 3.7. Tripan mavisi ile süspanse edilen SH-SY5Y ve HaCaT hücre hattının canlı ve ölü hücrelerinin inverter mikroskop altında incelenmesi.

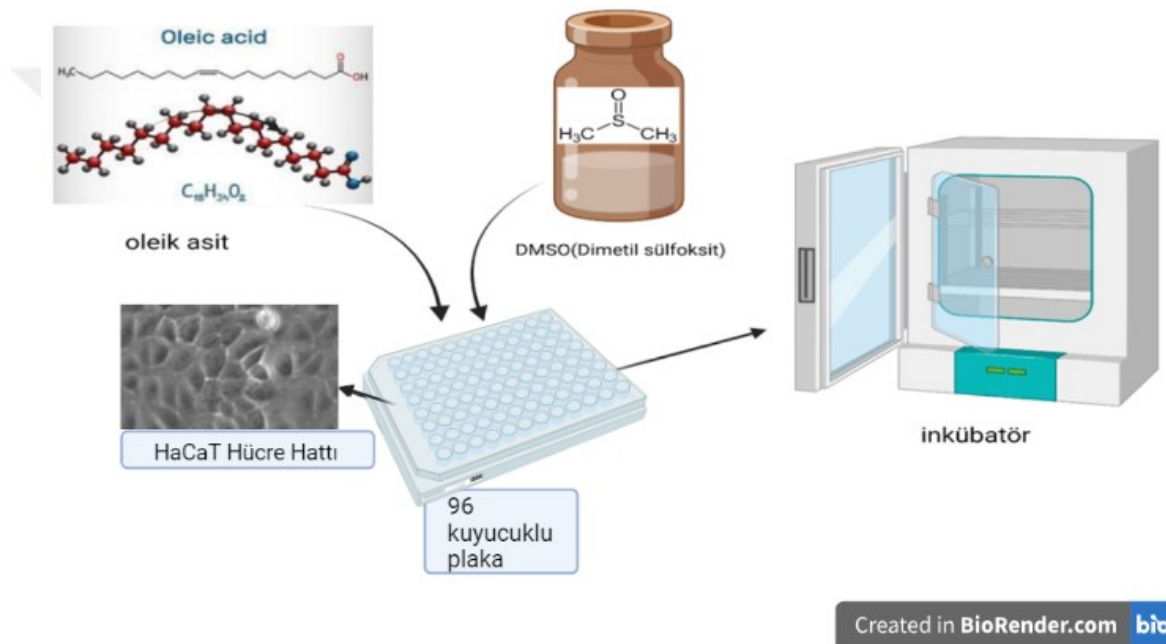


Şekil 3.8. Oleik aside maruz bırakılan SH-SY5Y hücre hattının inkübatöre kaldırılması.

Hücrelerin yeterli büyüklüğe ulaşması sonucunda oleik asit ile muamelesi gerçekleştirilmiştir. 3µL oleik asit 1mL DMEM/F-12 konsantrasyonunda çözülüp istenilen konsantrasyona gelene kadar DMEM/F-12 ile seyreltilmiştir. SH-SY5Y hücre hattının oleik asit ile maruziyeti (şekil 3.8.) içeriksiz besi ortamında gerçekleştirilmiş olup DMEM/F-12'nin son konsantrasyonu %0.10-%0.3 aralığındadır. Oleik asit muamelesinden sonra hücreler 48 saat boyunca %5 CO₂ içeren 37°C sıcaklıktaki inkübatörde inkübe edilmiştir. Aynı işlemler 15dk ve 12sa'lık oleik asit ve PEMF maruziyetleri içinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2. HaCaT Hücre Hattının Oleik Asit İle Maruziyeti

Hücrelerin yeterli büyüklüğe ulaşması sonucunda oleik asit ile muamelesi gerçekleştirilmiştir. 3µL oleik asit 1mL DMEM konsantrasyonunda çözülüp istenilen konsantrasyona gelene kadar DMEM ile seyreltilmiştir. HaCaT hücre hattının oleik asit ile maruziyeti (Şekil 3.9.) içeriksiz besi ortamında gerçekleştirilmiş olup DMEM'in son konsantrasyonu %0.10-%0.3 aralığındadır. Oleik asit muamelesinden sonra hücreler 48 saat boyunca %5 CO₂ içeren 37°C sıcaklıktaki inkübatörde inkübe edilmiştir. Aynı işlemler 15dk ve 12sa'lik oleik asit ve PEMF maruziyetleri içinde gerçekleştirilmiştir.

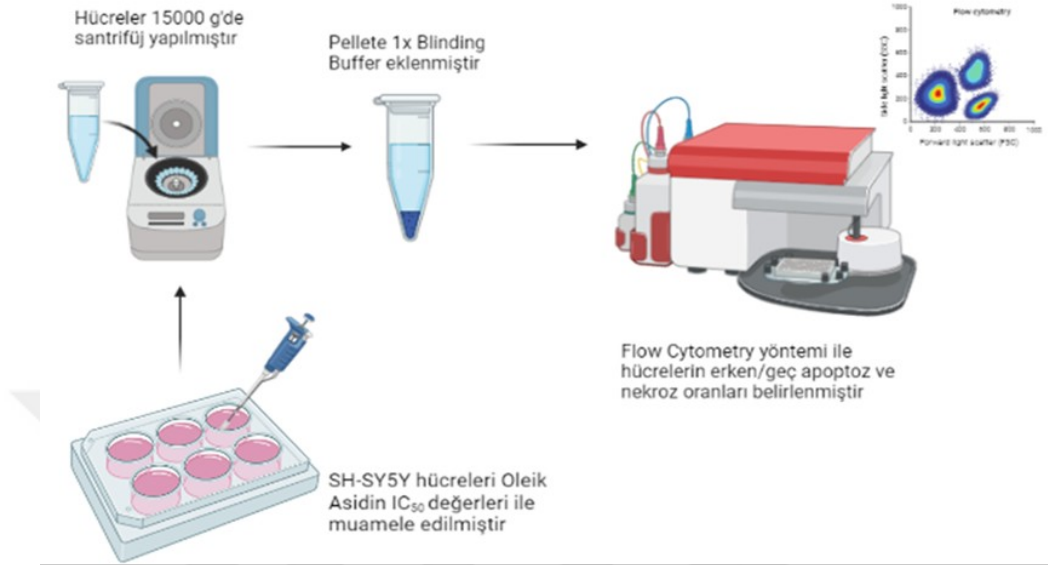


Şekil 3.9. HaCaT hücre hattının oleik asite maruziyeti sonrası inkübatöre kaldırılması.

3.2.5. Apoptoz Çalışmaları

Apoptoz çalışmaları için SH-SY5Y hücre hattı 3x10⁵ hücre/kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Yeterli yoğunluğa ulaşan hücrelerin IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Hücreler 37°C, %5 CO₂ koşullarında 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 3 kez 10 mM PBS ile yıkanan hücreler hücreleri plakadan ayırmaya yarayan Tripsin-EDTA çözeltisi ile plaka yüzeyinden kaldırılmıştır. Üzerlerine DMEM F-12 büyüme sıvısı eklendikten sonra hücreler 15000 x g'de santrifüjlenmiştir (VWR, Mega Star 1.6R). Pellete 100 µL (1X) Binding Buffer ilave edilip Annexin V Apoptoz Saptama Kiti içinde yer alan Annexin VAPC ve 7-AAD boyaları ile boyanmıştır. Oda sıcaklığında 20 dakika süren inkübasyon sonrası hücrelere tekrar 400 µL (1X) Binding Buffer ilave edilmiştir. Böylelikle NovoCyte Flow Sitometre Sistemi (Acea, Kuzey

Amerika) yardımı ile hücrelerin erken/geç apoptoz ve nekroz oranları incelenmiştir (Karakurt ve Adali, 2016).



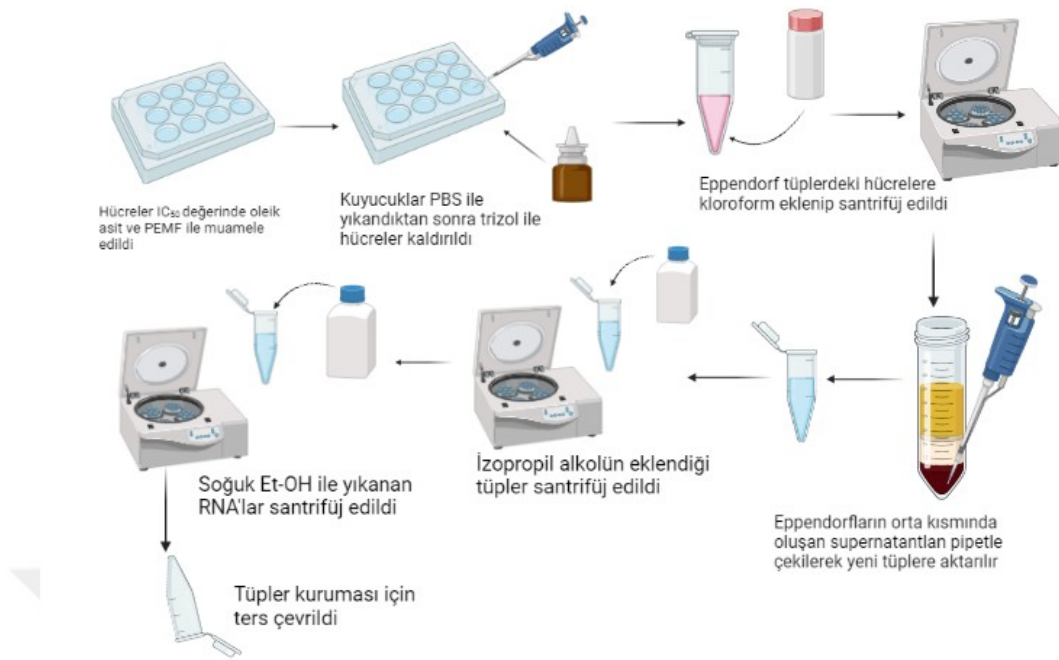
Şekil 3.10. Apoptoz çalışmalarının şematik gösterimi.

3.2.6. Gen Ekspresyonu Çalışmaları

3.2.6.1. Total RNA İzolasyonu

SH-SY5Y hücrelerinden elde edilen örneklerden total RNA, TRIZOL metodu ile izole edilmiştir (Rio vd., 2010).

Öncelikle SH-SY5Y hücreleri 3×10^4 hücre/kuyucuk olacak şekilde 24 kuyucuklu plakalara ekimleri yapılmıştır. Yaklaşık 24 saat sonunda yeterli yoğunluğa ulaşan hücreler oleik asidin IC_{50} değeri ile muamele edilerek, 24 saat $37^\circ C$, %5 CO_2 şartlarında inkübe edilmiştir.



Şekil 3.11. RNA izolasyonu şematik gösterimi.

İnkübasyon sonunda 24 kuyucuklu plaka PBS ile yıkanmıştır. Her bir kuyucuğa 0.5 mL Trizol eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Trizolün hücreleri kaldırma özelliğinden yararlanılıp her bir kuyucuğa pipetaj yapılarak hücreler 1.5 mL'lik eppendorf tüplere aktarılaraq 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bu işlemden sonraki izlenecek adımlar çeker ocakta gerçekleştirilmiştir. Her bir eppendorf tüpüne 120 μ L kloroform eklenmiştir ve sertçe sallanarak trizol ile karışması sağlanmıştır. 12000 x g, +4°C'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası tüplerde oluşan 3 faz en altta DNA, ortada RNA ve en üstte protein olarak sıralanmıştır. Mikro pipet yardımı ile ortadaki faz alınarak RNA'lar temiz birer eppendorf tüpe aktarılmıştır. Eppendorf tüplerin üzerine RNA'nın yoğunlaşarak daha görünür bir hale gelmesi için 250 μ L izopropil alkol eklenmiştir ve kibarca karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası tüpler 12000 x g, +4°C'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant uzaklaştırılarak pelletin üzerine 600 μ L soğuk Et-OH (%75'lik) eklenmiştir ve kısa süreli üç kez vortekslenerek buza gömülmüştür. Tüpler son kez 7500 x g, +4°C'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant atılarak tüpler kağıt bir peçete üzerine ters çevrilip 30 dakika oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Tüpler kuruduktan sonra üzerine 20 μ L DNAaz/RNAaz içermeyen su eklenmiştir. Örnekler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'ye kaldırılmıştır.

3.2.6.2. RNA konsantrasyonu hesaplama

-80°C'de saklanan RNA örnekleri bir tur spin atıldıktan sonra buza gömülmüştür. Nanodrop'a kontrol grubu olarak 1 μ L DNAaz/RNAaz içermeyen su ve 1 μ L örnekler yüklenerek elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve saflık oranları belirlenmiştir.

Saflığı 1.8-2.0 arasında olan RNA örnekleri cDNA sentezi için kullanılmıştır. Okunan konsantrasyon değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanarak cDNA sentezinde kullanılacak RNA örneklerinin miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{RNA Konsantrasyonu } \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} \right) = \frac{1}{\text{Ölçülen değer}} \times 1000 \quad (3.3.)$$

Eşitlik 3.3. cDNA sentezinde kullanılacak olan RNA'ların konsantrasyonlarını hesaplamak için kullanılan denklem.

3.2.6.3. cDNA sentezi

Elde edilen RNA'lardan cDNA sentezi iScript™ cDNA Sentez Kiti ile sentezlenmiştir (Bio-RAD, USA). cDNA sentezi için hesaplanan RNA miktarlarına göre toplam hacmi tamamlayacak şekilde (20 µL) dH₂O ve RNA'lar 0.2 mL'lik PCR tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra üzerlerine 4 µL 5X reaksiyon tamponu (250 mM Tris-HCl pH 8.3, 250 mM KCl, 20 mM MgCl₂ ve 50 mM DDT) ve 1 µL Revers Transkriptaz eklenerek son hacim 20 µL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan tüm PCR tüplerine 1 tur spin atıldıktan sonra Termal Döngüleyici'de 25°C 5 dk, 46°C 20 dk, 95°C 1 dk ve 4°C ∞ döngüde sentezi tamamlanarak sentezlenen cDNA'lar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır.

3.2.6.4. mRNA düzeyinde ekspresyonlarının tayin edilmesi

BAX, BCL2, kaspaz 3, P53 genlerinin hücre gruplarında mRNA düzeyindeki ekspresyonların tayini Kantitatif gerçek zamanlı RT-PCR (qRT-PCR) tekniği ile gerçekleştirilmiştir. kullanılmıştır. Kantitatif Real Time PCR Bio-Rad CFX96 cihazı (Bio-Rad, USA) kullanılmıştır. qRT-PCR' da kullanılacak olan primerler Primer 3 yazılımı kullanılarak dizayn edilmiştir ve NCBI blast yazılımı ile gene özgünlüğü kontrol edilmiştir.

Öncelikle cDNA'lar 10x ve gen spesifik primerler 50x dH₂O ile dilue edilmiştir. Reaksiyon 1X Maxima® SYBR Green qPCR Master karışımı ile gerçekleştirilmiştir. SYBR Green, qRT-PCR işleminde ürün amplifikasyonu sırasında çift sarmallı DNA'ya bağlanan bir ajandır. Reaksiyon tüpüne 2 µL cDNA, 7.2 µL RNAaz içermeyen su, 0.4 µL gen spesifik forward primer, 0.4 µL gen spesifik reverse primer ve 10 µL SYBR green qRT-PCR karışımı eklenmiştir.

Daha sonra reaksiyon karışımı PCR işlemi için önce 95°C' de 30 saniye aktivasyon, 95°C' de 5 saniye denatürasyon, 56°C' de 30 saniye olmak üzere toplam 40 döngü ile işlem sonlandırılmıştır.

mRNA ekspresyonları $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır (Livak ve Schmittgen, 2001).

$$2^{-\Delta\Delta C_t} = 2^{[\Delta C_t(\text{deney grubu}) - \Delta C_t(\text{kontrol grubu})]} \quad (3-4)$$

Eşitlik 3.4. $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi.

Çizelge 3.1. Genlerin primer dizilimi ve bilgileri

Gen Adı	NCBI Referans Numarası	Dizilimi (5'-3')	Sıcaklık (°C)	PCR Ürün Boyutu (bp)
GAPDH	NM_001357943.2	R-GTCAGTGGTGGACCTGACCT R- TGCTGTAGCCAAATTCGTTG	60	82
Bcl-2	NM_000657.3	F- GCTCTTGAGATCTCCGGTTG R- AATGCATAAGGCAACGATCC	54	186
Bax	NM_001291430.2	F- CAGCTCTTTAATGCCCCGTTG R- CTCAGCCCATCTTCTTCCAG	59	245
Caspase-3	NM_004346.3	F-AGCAGCTTTGTGTGTGTGATTCT R- AGTTTCGGCTTCCAGTCAGAC	56	136
TP-53	NM_001276696.2	F- TTGATGTTCTTCAACGATTTGG R- ACCGTTCTCCTTCTTCGAT	60	158

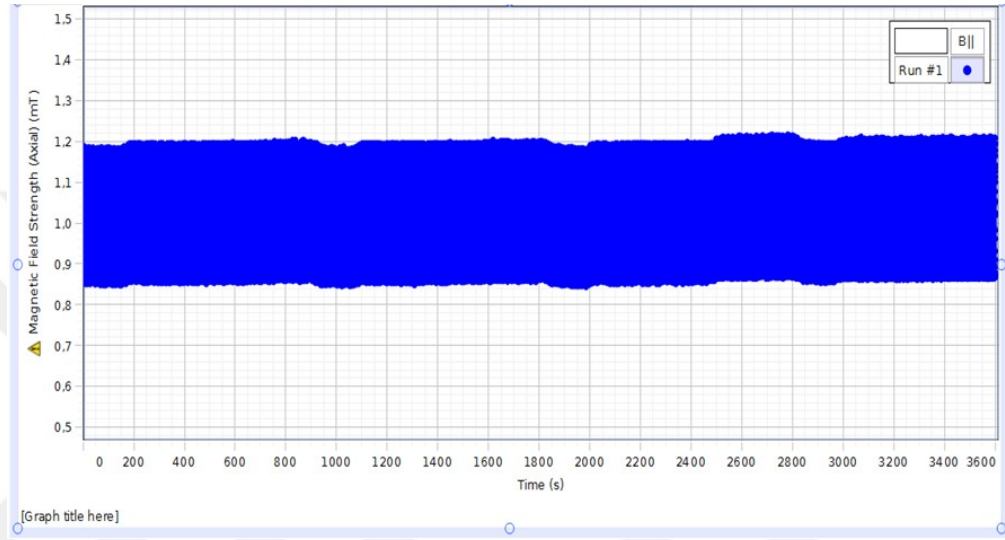
3.3. İstatiksel Analiz

Veriler SPSS v.23 (Chicago, IL) istatistik paket programı yardımıyla değerlendirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test kullanılmıştır. Sonuçlar en az üç bağımsız deneyi temsil etmektedir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak verilmiştir. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

4. BULGULAR

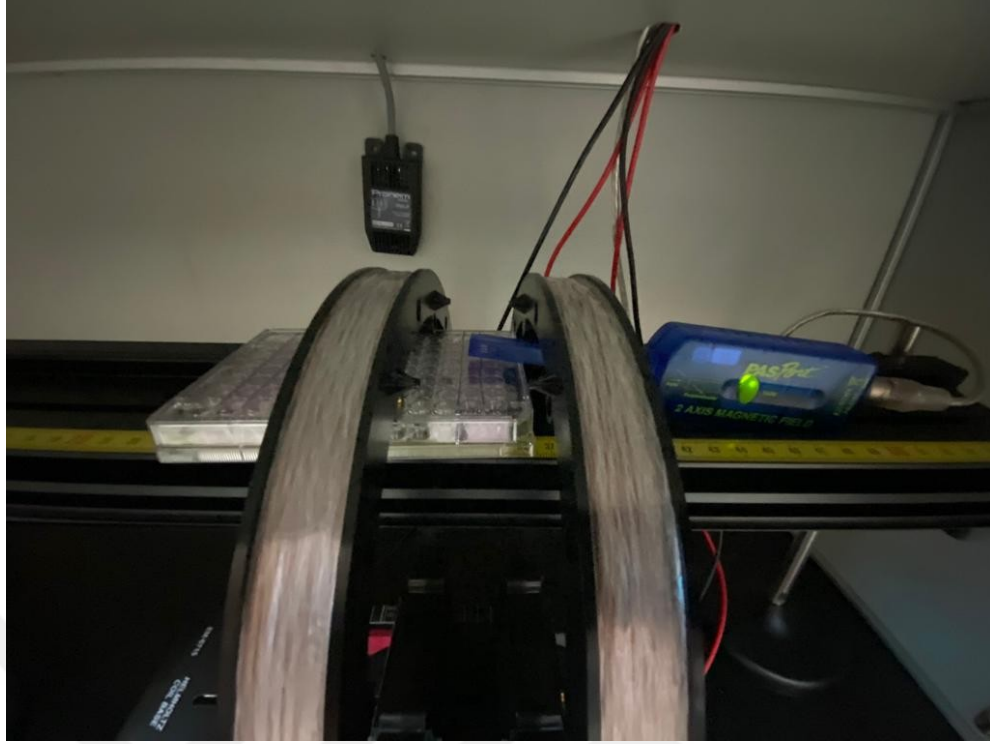
4.1. Pasco 850 Universal Interface Model Sinyal Üreticinden Elde Edilen Manyetik Alanın Grafik Modeli

SH-SY5Y nöroblastoma ve sağlıklı HaCaT hücre hattına uygulanan PEMF maruziyetinin, 15 dk ve 12 saat değişen süreler boyunca 1 ± 0.2 mT manyetik alan değerinin 0.8 mT ile 1.2 mT arasında (Şekil 4.1.) olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 4.1. Manyetik alan değerinin 1 mT değerinde ortalaması ile ± 0.2 mT arasında değişimi.

Hücreler maruziyet sırasında sensörün uç kısmındaki $1 \text{ mT} \pm 0.2 \text{ mT}$ manyetik alan değerinin tam ortasında olacak şekilde (Şekil 4.2.) konumlandırılmıştır.



Şekil 4.2. Hücrelerin PEMF'ye maruziyeti.

PEMF'de bulunan 500 sarımlık helmholtz bobinlerinin arasındaki manyetik alan değeri Biot-Savart denklemine göre (Denklem 4.1.) hesaplanmıştır.

$$B = \frac{\mu N I r^2}{2(x^2 + r^2)^{3/2}}$$

(4.1)

B: Manyetik alan değeri (T), I: bobin akımı (A), r: bobin yarıçapı (m), x: noktanın bobin mesafesi, N: tel halka sayısı ve μ : geçirgenlik sabiti = $1.257 \times 10^{-6} \text{ T.m/A}$

Pasco Capstone Yazılım programında seçilen 1.5 amper (A)'lik akım değeri, bobinler arasındaki mesafe 0.035 m, hücrelerin bobin tepesine uzaklığı 0.0201 m, SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerini içeren plakanın bobine uzaklığı 0.0175 m olacak biçimde denkleme (Denklem 4.2) yerleştirilmiş ve manyetik alan değeri 0.94 mT olarak hesaplanmıştır.

$$B = \frac{1.257 \times 10^{-6} \left(T \cdot \frac{m}{A} \right) * 500 * 1.5 (A) * 0.0201 m^2}{2 * (0.0175^2 + 0.0201^2 m^2)^{3/2}}$$

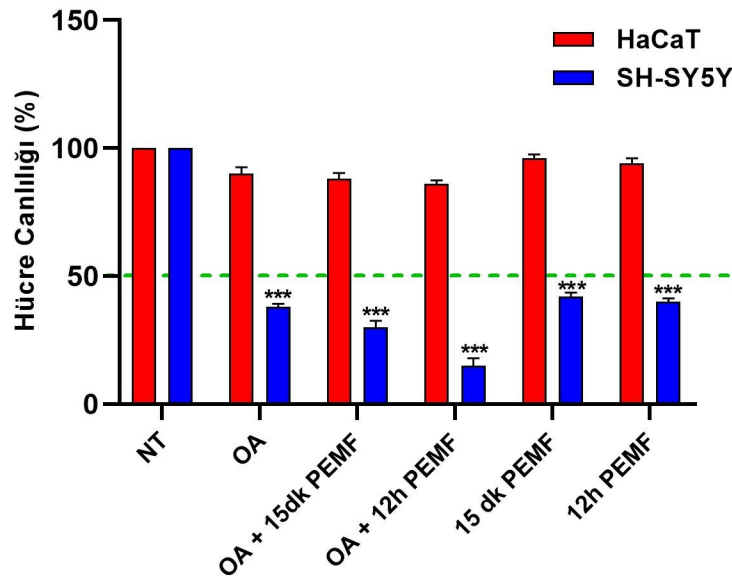
(4.2)

0.0009306 T (Tesla) olarak hesaplanan manyetik alan değeri olup birim çevirmeleri yapıldığında manyetik alan değeri (B) 0.94 mT (mili Tesla) olarak alınmıştır.

Kabul edilen 0.94 mT manyetik alan değeri, Pasco Capsotone Yazılımının 1 ± 0.2 mT manyetik alan dalga sinyalleri ile uyuşmaktadır. Manyetik alan değeri ölçümlere (0.94 mT) ve manyetik alan dalga sinyallerine (Şekil 4.1.ve Şekil 4.2.) bakıldığında 1 ± 0.2 mT bulunmuştur. Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde hücrelerin PEMF’ de 15 dakika ve 12 saat boyunca 1 ± 0.2 mT manyetik alana maruz kaldığı öngörülebilir.

4.2. PEMF Maruziyetinin Hücre Canlılığına Etkileri

PEMF maruziyetinin hücre gruplarının hücre canlılığı üzerine etkisini inceleyebilmek için Grup I’in hücre canlılığı %100 kabul edilerek diğer grup hücrelerinin %50’sini öldüren konsantrasyon (IC_{50}) değeri belirlenmiştir (Şekil 4.3.). Tüm gruplarda hücre canlılığı hiçbir muamelenin olmadığı (non-treated) kontrol hücre grubuna (Grup 1) ve sağlıklı HACAT hücre hattına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p \leq 0.001$, sırasıyla) (Şekil 4.3.). Özellikle, oleik asit muamelesinin ardından 12 saat PEMF’ye (75 Hz, 1.0 mT) maruz bırakılan SH-SY5Y nöroblastoma hücre hattında (Grup 4) hücre canlılığı diğer tüm deneysel gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p \leq 0.001$, sırasıyla) (Şekil 4.3.). Bu durum oleik asitle birlikte PEMF maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında hücre canlılığını azaltıcı olası etkisinin olabileceğini göstermektedir.



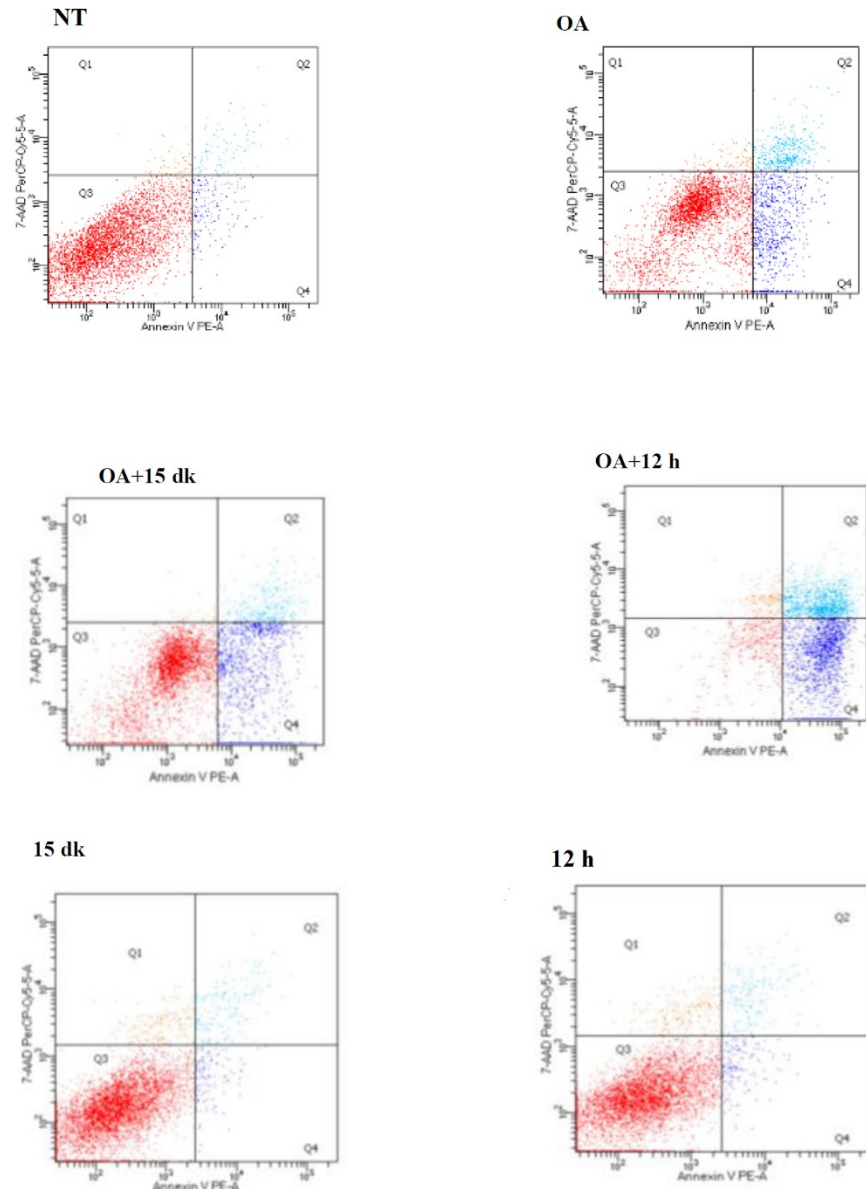
Şekil 4.3. Hücre canlılığı yüzdesinin (%) gruplar arasında karşılaştırılması. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirilmiş, çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test kullanılmıştır. *** $p < 0.001$ ’deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

4.3. PEMF Maruziyetinin Apoptoz Üzerindeki Etkileri

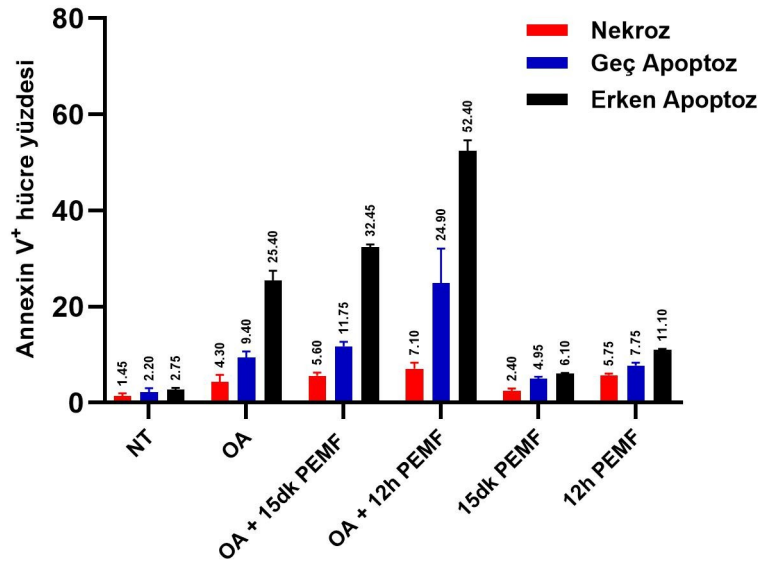
PEMF maruziyetinin apoptoz üzerindeki etkileri Flow Sitometri tekniği ile değerlendirilmiştir. Hiçbir muamele olmayan SH-SY5Y hücre hattının %1.45 nekroz,

%2.20 geç apoptoz, %2.75 erken apoptoza uğradığı belirlendi. Oleik asit ile muamele edilen grupta %4.30 nekroz, %9.40 geç apoptoz, %25.40 erken apoptoz gözlemlendi. Oleik asit muamelesinin ardından 15 dk PEMF'ye maruz bırakılan grupta %5.60 nekroz, %11.75 geç apoptoz, %32.45 erken apoptoz saptandı. Oleik asit muamelesinin ardından 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan grupta ise %7.10 nekroz, %24.90 geç apoptoz, %52.40 erken apoptoz gözlemlendi. Sadece farklı sürelerde PEMF maruziyetinin olduğu gruplarda ise 15 dk PEMF maruziyeti olan grupta %2.40 nekroz, %4.95 geç apoptoz, %6.10 erken apoptoz; 12 saat PEMF maruziyeti olan grupta ise %5.75 nekroz, %7.75 geç apoptoz, %11.10 erken apoptoz saptanmıştır. Bu sonuçlar oleik asit muamelesinin ardından 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan SH-SY5Y hücre hattında hiçbir muamele olmayan (non-treated) SH-SY5Y hücre hattına göre 19-kat, oleik asit muamelesinin ardından 15 dk PEMF'ye maruz bırakılan SH-SY5Y hücre hattına göre 1.61-kat daha fazla erken apoptoza uğratarak hücreleri apoptoza sürüklediğini göstermiştir (Şekil 4.4.). Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde, oleik asitle birlikte PEMF maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında hücreleri apoptoza sürükleyici olası etkisinin olabileceğini göstermektedir.

a)



b)



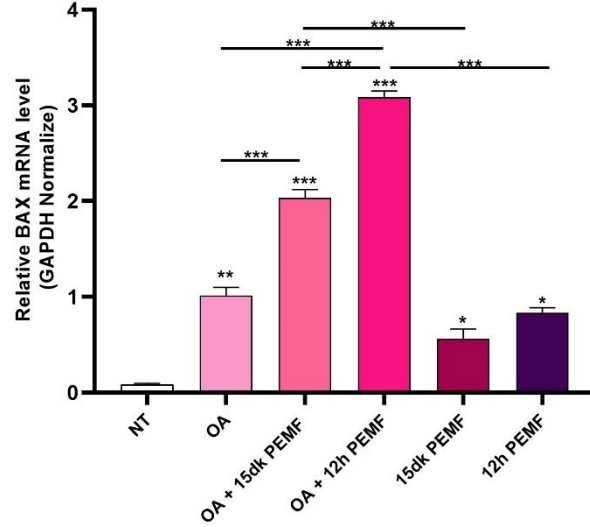
Şekil 4.4. Deney gruplarının (a) Annexin V^{+} hücre yüzdesi gösterimi, (b) erken/geç apoptotik ve nekrotik etkisi.

4.4. PEMF Maruziyetinin Apoptoz Yolağında Rol Alan Kilit Genlerin Ekspresyonu Üzerine Etkisi

4.4.1. Bax Gen Ekspresyonu

Hücre gruplarındaki Bax geninin mRNA seviyesi qRT-PCR tekniği ile belirlenmiştir. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test ile analiz edilmiştir. Tüm gruplardaki Bax ekspresyonu hiçbir muamelenin olmadığı (non-treated) gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.05$, $p \leq 0.05$; sırasıyla). 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu grupta oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre, 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu grupta da oleik asit ile birlikte 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük Bax ekspresyonu saptanmıştır ($p \leq 0.001$, sırasıyla). Sadece oleik asit muamelesinin olduğu grupta ise oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF ($p \leq 0.001$) ve 12 saat PEMF ($p \leq 0.001$) maruziyetinin olduğu gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük Bax ekspresyonu vardır. Oleik asit ile muamelenin ardından 15 dk PEMF'ye maruz bırakılan grupta 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük Bax ekspresyonu bulunmuştur ($p \leq 0.001$, sırasıyla). Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde hücre gruplarında Bax ekspresyonun artmasında hem oleik asit hem de PEMF maruziyetinin etkili olduğu özellikle oleik asit muamelesi ardından 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan grupta bu etkinin en fazla görüldüğü saptanmıştır. Bu durum oleik asit-PEMF kombinasyonunun apoptoz

mekanizmasında kilit rol oynayan moleküllerden Bax geninin ekspresyonu üzerinde artırıcı etkisi olduğunu göstermektedir.

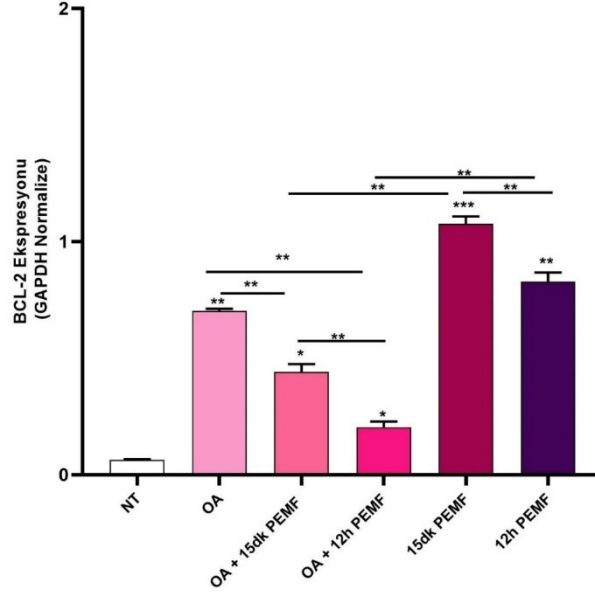


Şekil 4.5. Bax geninin mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

4.4.2. Bcl-2 Gen Ekspresyonu

Hücre gruplarındaki Bcl-2 geninin mRNA seviyesi qRT-PCR tekniği ile belirlenmiştir. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test ile analiz edilmiştir. Tüm gruplardaki Bcl-2 ekspresyonu hiçbir muamelenin olmadığı (non-treated) gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. ($p \leq 0.01$, $p \leq 0.05$, $p \leq 0.05$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.01$; sırasıyla). 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu grupta oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre, 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu grupta da oleik asit ile birlikte 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek Bcl-2 ekspresyonu saptanmıştır ($p \leq 0.01$, sırasıyla). Sadece oleik asit muamelesinin olduğu grupta ise oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF ($p \leq 0.01$) ve 12 saat PEMF ($p \leq 0.01$) maruziyetinin olduğu gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek Bcl-2 ekspresyonu vardır. Oleik asit ile muamelenin ardından 15 dk PEMF'ye maruz bırakılan grupta 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek Bcl-2 ekspresyonu bulunmuştur ($p \leq 0.01$, sırasıyla). Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde hücre gruplarında Bcl-2 ekspresyonun azalmasında hem oleik asit hem de PEMF maruziyetinin etkili olduğu özellikle oleik asit muamelesi ardından 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan grupta bu etkinin en fazla görüldüğü saptanmıştır. Bu durum oleik asit-PEMF kombinasyonun apoptoz mekanizmasında kilit

rol oynayan moleküllerden Bcl-2 geninin ekspresyonu üzerinde azaltıcı etkisi olduğunu göstermektedir

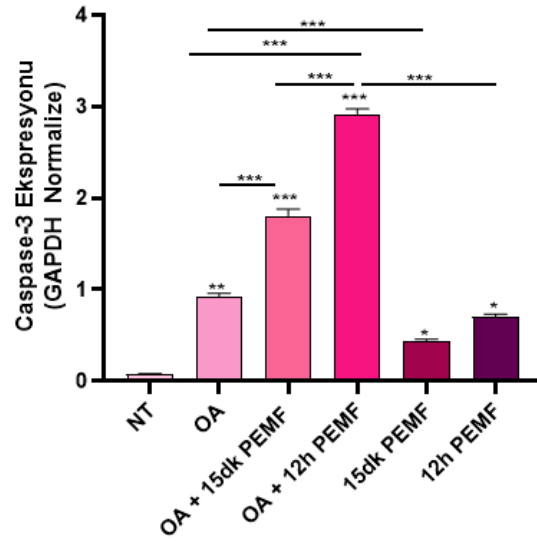


Şekil 4.6. Bcl-2 geninin mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

4.4.3. Kaspaz-3 Gen Ekspresyonu

Hücre gruplarındaki Kaspaz-3 geninin mRNA seviyesi qRT-PCR tekniği ile belirlenmiştir. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test ile analiz edilmiştir. Tüm gruplardaki Kaspaz-3 ekspresyonu hiçbir muamelenin olmadığı (non-treated) gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.05$, $p \leq 0.05$; sırasıyla). 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu grupta oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre, 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu grupta da oleik asit ile birlikte 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük Kaspaz-3 ekspresyonu saptanmıştır ($p \leq 0.001$, sırasıyla). Sadece oleik asit muamelesinin olduğu grupta ise oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF ($p \leq 0.001$) ve 12 h PEMF ($p \leq 0.001$) maruziyetinin olduğu gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük Caspase-3 ekspresyonu vardır. Oleik asit ile muamelenin ardından 15 dk PEMF'ye maruz bırakılan grupta 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük Kaspaz-3 ekspresyonu bulunmuştur ($p \leq 0.001$, sırasıyla). Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde hücre gruplarında Kaspaz-3 ekspresyonun artmasında hem oleik asit hem de PEMF maruziyetinin etkili olduğu özellikle oleik asit muamelesi ardından 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan grupta bu etkinin en fazla görüldüğü saptanmıştır. Bu durum oleik asit-PEMF kombinasyonunun

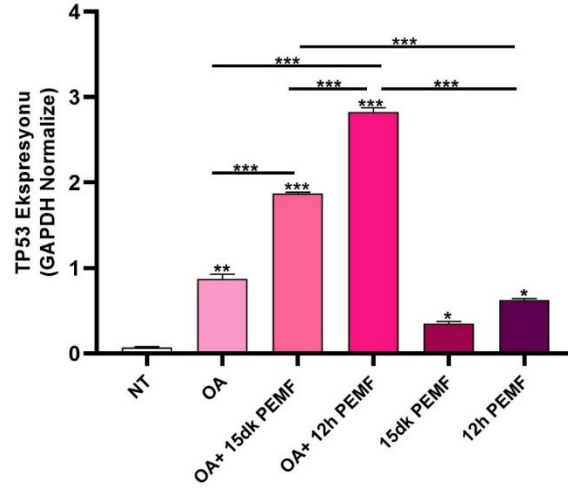
apoptoz mekanizmasında kilit rol oynayan moleküllerden Kaspaz-3 geninin ekspresyonu üzerinde artırıcı etkisi olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.7. Kaspaz-3 geninin mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

4.4.4. TP53 Gen Ekspresyonu

Hücre gruplarındaki TP53 geninin mRNA seviyesi qRT-PCR tekniği ile belirlenmiştir. Veriler Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) çoklu karşılaştırmada LSD Post-Hoc test ile analiz edilmiştir. Tüm gruplardaki TP53 ekspresyonu hiçbir muamelenin olmadığı (non-treated) gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p \leq 0.01$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.001$, $p \leq 0.05$, $p \leq 0.05$; sırasıyla). 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu grupta oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre, 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu grupta da oleik asit ile birlikte 12 saat PEMF maruziyetinin olduğu gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük TP-53 ekspresyonu saptanmıştır ($p \leq 0.001$, sırasıyla). Sadece oleik asit muamelesinin olduğu grupta ise oleik asit ile birlikte 15 dk PEMF ($p \leq 0.001$) ve 12 saat PEMF ($p \leq 0.001$) maruziyetinin olduğu gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük TP53 ekspresyonu vardır. Oleik asit ile muamelenin ardından 15 dk PEMF'ye maruz bırakılan grupta 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük TP53 ekspresyonu bulunmuştur ($p \leq 0.001$, sırasıyla). Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde hücre gruplarında TP53 ekspresyonun artmasında hem oleik asit hem de PEMF maruziyetinin etkili olduğu özellikle oleik asit muamelesi ardından 12 saat PEMF'ye maruz bırakılan grupta bu etkinin en fazla görüldüğü saptanmıştır. Bu durum oleik asit-PEMF kombinasyonunun apoptoz mekanizmasında kilit rol oynayan moleküllerden TP53 geninin ekspresyonu üzerinde artırıcı etkisi olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.8. TP53 geninin mRNA seviyesinin gruplara göre dağılımı. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ 'deki istatistiksel farkı işaret etmektedir.

5. TARTIŞMA

Elektromanyetik alanlar (EMF), elektrik akımı (elektrik alan) ve mıknatısların (manyetik alan) birleşimi ile oluşan manyetik alanlardır (Wang ve Zhang, 2017). Statik manyetik alanlar dünyanın yapısından kaynaklı oluşmaktadır ve statik manyetik alanların dışında insan yapımı EMF'ler de bulunmaktadır (Wang ve Zhang, 2017). Yapay yollarla elde edilen elektromanyetik alanlar “aşırı düşük frekanslı elektromanyetik alanlar (ELF-EMF, <300 Hz)”, “ara frekanslı elektromanyetik alanlar (300 Hz-10 MHz)” ve “radyo frekansı (10 MHz-300 GHz)” olmak üzere sahip oldukları frekanslara göre oluşmaktadır (Wang ve Zhang, 2017). Yapay yollardan elde edilen EMF'ye sahip cihazların sayısı ve maruziyet süresi geçtiğimiz son on yıl boyunca büyük bir artış göstermiştir (Poniedzialek vd., 2013). EMF'ler bazı kanser türlerinin, depresyon gibi nörodejeneratif hastalıkların görülme sıklığını artırarak insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Poniedzialek vd., 2013). Günlük hayatta oldukça sık kullanılan bilgisayar, cep telefonu, TV, kablosuz internet, ev aletleri gibi elektronik cihazların yan ürünü olarak üretilen EMF'ler aynı zamanda tıpta görüntüleme cihazları olan manyetik rezonans (MR), bilgisayarlı tomografi (BT), röntgen gibi çeşitli medikal cihazlarda da kullanılmaktadır (Miyakoshi, 2006; Taşpınar, 2008). Düşük frekansa sahip olan EMF'lerin nöroloji, romatoloji, ortopedi gibi alanlardaki hastalıklarda iyileşme süreçlerini tetikleyebildiği, psikiyatri ve plastik cerrahi dahil olmak üzere tıpta çeşitli alanlarda tedavi amaçlı olarak kullanılabileceği kabul edilmektedir (Markov, 2007). Düşük frekanslı EMF uygulamalarının içinde en dikkat çeken belirli dalga formuna ve genliğe sahip olan “Darbeli Elektromanyetik Alan (Pulsed Electromagnetic Field) (PEMF)”dır (Gümüşay vd., 2016; Krath vd., 2017). PEMF uygulaması ile yapılan çalışmalar cilt ülseri, kronik yaraların tedavisi, nörodejeneratif ve oküler hastalıkların tedavisi, parkinson hastalığı, ameliyat sonrası ağrı, ödem, kanser hücrelerinin tedavisi gibi alanlara öncülük ederek ışık tuttuğunu göstermektedir (Zou vd., 2017; Amiri vd., 2017; Demirel vd., 2016; Milgram vd., 2004; Athanasiou vd., 2007; Topal, 2016). Ayrıca, PEMF'nin beyin kanseri hücre hatları üzerine yapılan çalışmalarda hücre canlılığını değiştirdiği ve apoptozu indüklediği raporlanmıştır (Akbarnejad vd., 2017; Amiri vd., 2017).

Apoptoz, genel olarak hücrelerin kendi kendilerini yok ettikleri, proapoptotik ve antiapoptotik proteinler arasındaki denge ile düzenlenen, RNA, protein sentezi ve enerjiye gereksinim duyan programlanmış hücre ölümüdür (Coşkun vd., 2011). Nöronlar dahil olmak üzere birçok hücre tipinde apoptozun düzenlenmesinde anahtar rol oynayan proteinler arasında p53, Bcl-2 gen ailesi proteinleri (bcl-2, bax), ve kaspazlar sayılabilir (Brenner ve Mak., 2009; Huang vd., 2020). Kaspazlar, DNA tamiri ve replikasyonu için gerekli enzimleri inaktive ederek DNA hasarı oluşan hücrelerin yıkımında, tümör hücrelerinin ortadan kaldırılmasında rol oynarken bcl-2 apoptoz inhibitörü olarak bu olaya karşı savunma gerçekleştirir (Kim vd., 2010). Bax protein ise yapısal olarak bcl-2 ile yüksek benzerlik gösterse de proapoptotik (apoptozu aktive eden) bir proteindir ve antiapoptotik (apoptozu önleyen) genler tarafından inaktive edilir (Adamkov vd., 2019; Singh vd., 2019; Cimmino vd., 2005). TP53 tümör baskılayıcı bir gen olup DNA'da görülen hasar tamir edilemeyecek durumda ise bax, bcl-2'yi baskılayarak apoptozu indükler (Kane vd., 1995). Farklı frekans (1Hz, 50 Hz, 100 Hz, 125 Hz, 200 Hz, 275 Hz) ve dalga boyuna (10 G, 50 G, 70 G, 100 G, 1000 G) sahip düşük frekanslı elektromanyetik alanların (ELF-EMF), statik manyetik alanların (SMF),

farklı frekanstaki radyo frekansların (900 MHz, 2.1 GHz RF), farklı frekans (1Hz, 50 Hz, 100 Hz) ve dalga boyunda (50 G, 70 G, 100 G, 100 G) PEMF'nin, farklı sürelerde (gün, saat) maruziyetinin kanser hücrelerinde (meme kanseri, kemik kanseri, cilt kanseri, beyin kanseri hücreleri gibi) apoptozda rolü olduğu çok çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Amiri vd. 2017; Mercantepe vd. 2018; Barati vd. 2020; Xu vd. 2020; Crocetti vd. 2013; Tüysüz vd. 2019). Ayrıca, beyin kanser hücreleri üzerine yapılan hücre kültürü çalışmaları, farklı frekans ve dalga boyuna sahip PEMF'nin belirli zaman aralıklarıyla uygulanmasının apoptoz ve apoptoza bağlı genlerin seviyelerinde değişikliğe neden olduğunu göstermiştir (Akbarnejad vd. 2017; Amiri vd. 2017; Kaszuba vd. 2018).

Beyaz yağ dokusundan sonra vücuttaki en yüksek lipid içeriğine sahip organ beyindir. Lipidlerin biyosentezi ve birikimi, örneğin nöral hücre zarlarının gelişimle ilişkili biyogenezi sırasında, beyin yapısının ve işlevinin korunmasında önemli bir rol oynar. Lipid metabolizmasındaki değişikliklerin birçok nörolojik hastalığın nedeni olduğu veya bunlarla ilişkili olduğu iyi bilinmektedir (Lukiw ve ark., 2005). Memeli beynindeki ana glial hücre sınıfı olan astrositler, beyin metabolizmasında aktif rol oynarlar. Nöronal aktivite sırasında, astrositler tarafından alınan glikoz, laktata dönüştürülür ve daha sonra nöronlar tarafından kullanılmak üzere hücre dışı boşluğa salınır (Tsacaopulos, 2002). Yağ asitlerinin hücre ölüm yollarına katılımı, özellikle lipid aracılı apoptotik mekanizmalardaki rolü bildirilmiştir (Zhu ve ark., 2005). Oleik asit (OA), tekli doymamış yağ asidi (MUFA) sınıfında olup karaciğer yağlanması ve bazı kanser türlerine karşı koruma sağlayan zeytinyağının bir bileşenidir. Oleik asitin kötü huylu olmayan (non-malignant) hücre büyümesini artırırken, kötü huyluda (malignant) tam tersi etki yaptığı gösterilmiştir (Zeng vd., 2010). Oleik asitin tamoxifen, trastuzamab ve DHApacitaxel gibi sitotoksik ilaçların antitümör etkisini artırıcı özelliği bildirilmiştir (Shaikh vd., 2010; Menendez vd., 2001). Meme ve prostat kanserinde yapılan çalışmalar zeytin yağı ve oleik asitin meme kanserine karşı potansiyel koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir (Liu vd., 2009; Hughes-Fulford vd., 2001; Escrich vd., 2008; Chajes vd., 2008; Zeng vd., 2010; Martinez J vd., 2005). Karaciğer kanserlerinden hepatoselüler karsinoma (HCC) üzerinde yapılan bir çalışmada oleik asitin HCC hücre ölümünü otofaji yoluyla stimüle ettiği gösterilmiştir (Giulitti vd., 2021). Oleik asitin proapoptotik kapasitesi bazı nöron olmayan hücre popülasyonlarında (endotel hücre hattı (ECV-304), pankreatik β -hücre hattı (INS-1)) gösterilmiş ve çok sayıda mekanizmanın oleik asit tarafından indüklenen hücre ölümünden sorumlu olduğu raporlanmıştır (Duval vd. 2003; Wrede vd. 2002). Örneğin, oleik asitin protein kinaz B (PKB) yolağını inhibe ettiği (Wrede ve ark. 2002), protein fosfotaz tip 2C (PP2C)'yi aktivite ettiği (Klumpp ve ark. 2002), ROS (Puertollano ve ark. 2003) ve NO (Maestre ve ark., 2003) üretimini arttırdığı, NF- κ B aktivasyonunu inhibe ettiği (Mizotani ve Inoue, 2002) bildirilmiştir. Bu sonuçlar, oleik asitin hücre ölümünde yüksek etkisi olduğunu göstermektedir. Oleik asite maruz bırakılan akciğer kanseri hücre hattı A549, karaciğer kanser hücre hattı HuH-7, meme kanseri hücre hattı MCF-7, kolon kanseri hücre hattı DLD-1 ve kolorektal kanser hücre hattı LoVo üzerinde yapılan bir çalışmada kanser hücrelerinde oleik asit ve oleoylethanolamidin (OEA) programlı ölüm ligandı 1 (PD-L1), Bax, Bcl-2 ve kaspaz 3 ekspresyonunu ve interferon (IFN- γ) indüklü sinyal iletimcileri ve transkripsiyon aktivatörleri (STAT) fosforilasyonunu azalttığı ve STAT fosforilasyonu yoluyla apoptozu indüklediği raporlanmıştır (Yamagata vd., 2021).

Beyin kanser hücreleri üzerine yapılan hücre kültürü çalışmaları, farklı frekans ve dalga boyuna sahip PEMF'nin belirli zaman aralıklarıyla uygulanmasının apoptoz ve apoptoza bağlı genlerin seviyelerinde değişikliğe neden olduğunu göstermiştir (Akbarnejad vd. 2017; Amiri vd. 2017; Kaszuba vd. 2018). Fakat literatürde, erken çocukluk çağında görülen ve sempatik sinir sisteminden kaynaklanan kötü huylu bir beyin tümörü olan insan nöroblastoma hücre hattı üzerinde, belirli bir frekansa ve dalga boyuna sahip PEMF'nin hem kısa hem de uzun süreli maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak apoptoz mekanizmalarına etkilerini araştıran çalışmalar sınırlıdır. Özellikle, beyin kanseri hücrelerinde hücre proliferasyonu ve/veya hücre ölümüne, apoptoz mekanizmalarına etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmamış hücre membranından geçme potansiyeli olan oleik asitin PEMF ile sinerjik etkisinin birlikte değerlendirildiği çalışmalar yok denecek kadar azdır. Bu nedenle tez çalışması, daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak, farklı konsantrasyon ve sürelerde oleik asit ile muamele edilen insan nöroblastoma hücre hattını 75 Hz, 1 mT PEMF'ye hem kısa (15 dk) hem de uzun süre (12 saat) maruz bırakarak, oleik asit ile birlikte PEMF maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak hücre canlılığına, apoptozu indükleyip indüklenmediğine ve apoptoz mekanizmasında rol alan kilit moleküllerin mRNA düzeylerine etkilerini farklı moleküler tekniklerle inceleyemeyi amaçlamıştır.

Tez çalışmasından elde edilen sonuçlar topluca değerlendirildiğinde oleik asit muamelesinin ardından uzun süre (12 saat) 75 Hz, 1 mT PEMF'ye maruz bırakılan SH-SY5Y nöroblastoma hücre hattında hücre canlılığı diğer tüm deneysel gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ($p \leq 0.001$, sırasıyla). Bu durum oleik asitle birlikte PEMF maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak SH-SY5Y insan nöroblastoma hücre hattında hücre canlılığını azaltıcı olası etkisinin olabileceğini göstermektedir. Bu etkinin apoptozis indüksiyonuna neden olarak mı ortaya çıktığını anlayabilmek için hücrelerin hangi yolla ölüme sürüklendiği (apoptoz/nekroz) akış sitometri tekniği ile incelenmiş ve oleik asit muamelesinin ardından uzun süre (12 saat) 75 Hz, 1 mT PEMF'ye maruz bırakılan SH-SY5Y nöroblastoma hücre hattında hücrelerin diğer gruplara kıyasla daha fazla erken apoptoza uğrayarak apoptoza sürüklendiği bulunmuştur. Çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde, PEMF'nin beyin kanseri hücre hatlarına direkt ya da kematerapötik ilaçlarla birlikte uygulanmasının hücre canlılığını değiştirdiği, kanserli hücre proliferasyonunu engellereyerek apoptozu indüklediği raporlanmıştır (Akbarnejad vd., 2017; Amiri vd., 2017). Örneğin, H4 glioma hücre hattında ELF-PEMF (7 Hz, 30 mT)'ye günde 3 kez 4 saat maruziyetin hücredeki canlılık değişikliklerine neden olduğu ve apoptozu indüklediği akış sitometri (flow cytometry) tekniği ile raporlanmıştır (Kaszuba vd. 2018).

Çalışmanın bir sonraki aşamasında apoptoz mekanizmasında rol alan kilit moleküllerin (kaspaz-3, Bcl-2 gen ailesinden antiapoptotik "Bcl-2" ve proapoptotik "bax", ve tümör baskılayıcı bir gen olan "TP53") mRNA düzeylerindeki değişiklik qRT-PCR tekniğiyle incelenmiştir. Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde, oleik asit muamelesinin ardından uzun süre (12 saat) 75 Hz, 1 mT PEMF'ye maruz bırakılan SH-SY5Y nöroblastoma hücre hattında oleik asit-PEMF kombinasyonunun apoptoz mekanizmasında kilit rol oynayan moleküllerden Bax, kaspaz-3, TP53 geninin ekspresyonu üzerinde artırıcı, Bcl-2 geninin ekspresyonu üzerinde ise azaltıcı etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bcl-2'nin Bax ve diğer proapoptotik proteinlere bağlandığı ve onları etkisiz hale getirdiği, böylece apoptozu inhibe ettiği bilinmektedir (Valdes Rives

vd., 2017). Bu nedenle, çalışmada gözlemlenen Bax genindeki artışa nazaran azalmış bcl-2 gen ekspresyonu literatürle uyumludur. Farklı frekans (10 Hz, 50 Hz, 100 Hz), zaman (2, 4, 24 saat) ve dalga boyları genliğinde (50 G, 100 G) ELF-PEMF uygulamasının kötü huylu bir beyin tümörü olan Glioblastoma Multiforme (GBM) U87 hücre hattının morfolojisine, canlılığına, hücre döngüsünün düzenlenmesinde (cyclin-D1, p53) ve apoptozda (caspase-3) rol oynayan proteinlerin ekspresyonuna etkilerinin araştırıldığı Akbarnejad vd. (2017) çalışmasında 24 saat 100 Hz (100 G) ELF-PEMF'ye maruz kalan grupta diğer gruplara kıyasla hücre canlılığının azaldığı, cyclin-D1 ekspresyonunun azaldığı, P53 ve caspase-3 proteinlerinin ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir. Ayrıca uygulanan ELF-PEMF'nin frekansına, zamanına, genliğine bağlı olarak hücrelerde farklı antiproliferatif, proliferatif ve apoptatik etkilerin olabileceği raporlanmıştır. Çalışmada, uzun süre (12 saat) 75 Hz frekansında PEMF'ye maruz kalan SH-SY5Y hücre grubunda oleik asit muamelesinin apoptozu indüklemedeki etkisiyle birlikte gözlemlenen hücre canlılığında azalma, TP53, kaspaz-3 gen ekspresyonlarında artış Akbarnejad vd. (2017) çalışmasında raporlanan U87 hücre hattının uzun süre (24 saat) ve 100 Hz (100 G) frekansında ELF-PEMF muamelesinden elde edilen sonuçlarla uyumludur. Aynı grubun başka bir çalışmasında (Akbarnejad vd. 2017), glioblastoma hücrelerine (U87 ve T98G) GBM tedavisinde kullanılan bir ilaç olan temozolomidin (TMZ) 100 µM muamelesinin ardından 100 Hz (100 G) ELF-PEMF'ye 144 saat maruziyetin hücre canlılığını azalttığı, p53, bax ve kaspaz-3 ekspresyonlarını arttırarak, Bcl-2 ve cyclin-D1 ekspresyonunu ise azaltarak apoptozu tetiklediği gösterilmiştir. Yine başka bir çalışmada (Pasi vd., 2016), T98G glioblastoma hücre hattında PEMF'nin kanser ilerlemesinde yer alan genlerin ekspresyonu üzerindeki olası epigenetik etkileri miRNA'lerle incelenmiş ve TMZ ile kombine halinde 75 Hz (2 mT) frekansında PEMF'ye 1 saat maruziyetin kemo ve radyorezistant T98G glioblastoma hücre hattında epigenetik proapoptotik etki ortaya çıkardığı raporlanmıştır. Çalışmamızın ve literatürdeki çalışmaların (Akbarnejad vd. 2017; Pasi vd., 2016) sonuçları beyin kanseri hücre hatlarının kanser hücrelerinde apoptozu indüklemeye etkileri bilinen oleik asit veya kanser tedavisinde kullanılan bir ilaç olan temozolomidin (TMZ) gibi ilaçla muamelenin ardından yüksek frekansda PEMF'ye (≥ 75 Hz) uzun süre maruz bırakılmasının (≥ 1 saat) hücre canlılığında azalmaya neden olduğunu, apoptozun proapoptotik ve antiapoptotik mekanizmalarındaki genlerin seviyelerinde, miRNA'lerin aracılık ettiği kanser ilerlemesinde yer alan genlerin ekspresyonunda değişikliklere neden olarak apoptozu indüklediğini göstermiştir. Uygulanan manyetik alanın farklı olmasına rağmen yine tüm bu yukarıda özetlenen çalışmaların sonuçlarını destekler nitelikte Amiri vd. (2017) çalışmasında farklı zamanlarda (12, 24 ve 48 saat) uygulanan düşük frekanslı manyetik alan (EMF) (50 Hz, 70 G) maruziyeti ile birlikte kemoterapide kullanılan karboplatin ilacının farklı dozlarda (0,67 mM, 1,35 mM, 2,7 mM, 5,4 mM) uygulanmasının glioblastoma hücre hattında (U87) kaspaz-3 protein ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla 24 ve 48 saat aralığında %23 ve %4 arttığı gösterilmiştir. Literatürde PEMF'nin beyin kanseri hücre hattından farklı olarak meme kanser hücre hatlarında da apoptoz mekanizmasında rolünü gösteren çalışmalarda mevcuttur. Örneğin, meme kanseri üzerine yapılan çalışmada (Crocetti vd. 2013) meme kanseri MCF-7 ve malignant olmayan MCF-10 hücre hatlarına PEMF (20-50 Hz frekans, 2-5 mT yoğunluk) 30-90 dk zaman aralığında uygulandığında MCF-10 hücre hattına kıyasla MCF-7 hücre hattında apoptozun %25 arttırdığı akış sitometri tekniği ile tespit edilmiştir. Yine, meme kanseri hücresi üzerinde yapılan başka bir çalışmada (Barati vd. 2020), ELF-EMF maruziyetinin (5 gün boyunca 100 mT/1Hz, her gün 120

dk) MC4L2 meme kanseri hücre hattında P38 ve P21'in mRNA ekspresyon seviyesindeki artışla ilişkili olarak apoptozu %30 indüklediği gösterilmiştir. Meme kanseri hücresi olan MCF-7 ve kontrol ZR-75-1 hücre hatlarına 6, 12, 24, 36 saat aralıklarıyla uygulanan LF-MF (1 mT, 50, 125, 200, 275 Hz) nin proapoptotik proteinlerden bax, ve kaspaz-3'n ekspresyonunu arttırarak, antiapoptotik protein olan Bcl-2'nin ise ekspresyonunu azaltarak apoptozu indüklediği Xu vd. (2020) alışmasında raporlanmıştır.

Çalışma yukarıda özetlenen çalışmalardan farklı olarak tekli doymamış yağ asidi (MUFA) sınıfında olup kanser türlerine karşı koruma sağlayan zeytinyağının bir bileşeni olan oleik asidin PEMF ile kombinasyonun nöroblastoma hücre hattında apoptoz mekanizmasındaki rolünü inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmanın sonuçları, oleik asit ile muamele edilen nöroblastoma hücre hattının uzun süre PEMF gibi pulse yani darbeleri yayılan düşük frekanslı elektromanyetik alana maruz kalmasının hücreleri kesikli ve periyodik olarak uyararak beyin kanseri hücre hattında hücre canlılığını azaltarak ve apoptoz mekanizmasındaki kilit rol oynayan genlerin seviyesinde değişikliğe neden olarak hücreleri apoptozu sürüklediğini göstermektedir.



6. SONUÇLAR

Tıpta birçok hastalığın tanı ve tedavisi geçmişten günümüze kadar sürekli gelişmektedir. Bu hastalıkların tanı ve tedavisinde elektromanyetik alanların kullanılması ve gün geçtikçe kullanımının artıp ilerleme kaydetmesi önemli bir rol oynamaktadır. Bunlardan birisi de düşük frekanslara sahip olan darbeli elektromanyetik alandır. Elektromanyetik alanların yüksek frekansta (300 Hz-10 MHz) kullanılması vücut sağlığını etkileyebilirken darbeli elektromanyetik alan düşük frekanslı bir elektromanyetik alan olup, çalışmalar PEMF uygulamasının parkinson hastalığı, ameliyat sonrası ağrı ve ödem, kronik yaraların tedavisi, nörodejeneratif ve oküler hastalıkların tedavisi, kanser hücrelerinin tedavisi gibi alanlarda kullanıldığını, ve kanser hücrelerinde apoptozu indüklediği gösterilmiştir (Hug vd., 2012; Vadala vd., 2016; Zou vd., 2017; Strauch vd., 2009; Markov vd., 2007; Amiri vd., 2018). Literatürde, PEMF maruziyeti ve oleik asitin beyin tümör hücrelerinde apoptoz mekanizmalarındaki rolü, beyin tümör hücrelerinin hücre proliferasyonu ve/veya hücre ölümüne etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılmış değildir. Çalışma, farklı konsantrasyon ve sürelerde oleik asit ile muamele edilen insan nöroblastoma hücre hattını 75 Hz, 1 mT PEMF'ye hem kısa (15 dk) hem de uzun süre (12 saat) maruz bırakarak, oleik asit ile birlikte PEMF maruziyetinin maruziyet süresine bağlı olarak hücre canlılığına, apoptozu indükleyip indüklediğine ve apoptoz mekanizmasında rol alan kilit moleküllerin düzeylerine etkilerini moleküler tekniklerle incelemeyi amaçlamıştır. Elde edilen sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde, oleik asit muamelesinin ardından 12 saat 75 Hz frekans 1 ± 0.2 mT yoğunlukta PEMF'ye maruziyetin SH-SY5Y hücre hattında kontrol HACAT hücre hattına kıyasla hücre canlılığını azaltıcı, TP53, kaspaz-3, bax ekspresyonunu arttırıcı, Bcl-2 ekspresyonunda ise azaltıcı etki göstererek hücreleri apoptoza sürüklediği bulunmuştur. Elde edilen bilimsel verilerle, beynin uygun gelişimi ve işleyişi için gerekli bir yağ asidi olan oleik asit ile birlikte PEMF uygulamasının insan nöroblastoma hücrelerinde apoptoz mekanizmalarındaki etkileri farklı moleküler yöntemlerle incelenerek, beyin tümörlerinin progresyonu ve tedavisinde doymamış yağ asitlerinin kullanımı ve bunların PEMF ile birlikte sinerjik etkisinin çalışılacağı biyomedikal uygulama alanlarının genişletilmesine katkı sağlanmış olup, çalışmanın ilerideki *in vivo* ve/veya *in vitro* çalışmalara ışık tutacağına inanıyoruz. Farklı hücreler, dokular veya hayvan modelleri üzerindeki farklı doz, frekans, yoğunluk, genlik, maruziyet süreleri gibi PEMF parametrelerinin değerlendirileceği çalışmalar PEMF'nin fizyolojik etkileri hakkında daha kesin bilimsel veriler elde edilmesini sağlayacaktır. Bu nedenle, mevcut çalışmanın PEMF maruziyeti ile aktive edilen moleküler, biyokimyasal ve hücresel süreçlere odaklanan daha ileriki çalışmalara da yön vereceğine inanıyoruz.

7. KAYNAKLAR

- Adamkov, M. 2019. Logical complexity of Bcl-2 family proteins function in the intrinsic apoptosis. *Srp Arh Celok Lek.*, 147:98-104.
- Adams, J.M., Cory, S. 2001. Life or death decions by the Bcl-2 family. *Trends. Biochem Sci.*, 26:61-6.
- Adrain, C., Martin, S.J. 2001. The mitochondrial apoptosome: a killer unleashed by the cytochrome seas. *Trends Biochem Sci.* 26:390-7.
- Aits, S. 2009. HAMLET (Human Alpha-Lactalbumin Made Lethal to Tumor Cells) Triggers Autophagic Tumor Cell Death. *Int J Cancer.*, 124:1008-019.
- Akbarnejad, Z., Eskandary, H., Dinf, L., VergalloC, Nematollahi-Mahanie, SN., Farsinejadf, A., Abadf, MFS., Ahmadia, M. 2017. Cytotoxicity of temozolomide on human glioblastoma cells is enhanced by the concominant, exposure to an extremely low-frequency electromagnetic field (100 Hz, 100 G). *Electromagnetic Biology and Medicine*, 92:254-264.
- Akbarnejad, Z., Eskandary, H., Vergallo, C., Nematollahi-Mahani, SN., Dini, L., Darvishzadeh-Mahani, F., Ahmadi, M. 2016. Effects of extremely low-frequency pulsed electromagnetic fields (ELF-PEMFs) on glioblastoma cells (U87). *Electromagnetic Biology and Medicine*, 36:3, 238-247.
- Alenzi, F.Q., Lofty, M., Wyse, R. 2010. Swords of cell death: caspase activation and regulation. *Asian Pac J Cancer Prev.* 11(2):271-280.
- Ameisen, J.C. 2002. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death and Differentiation*, 9:367-393.
- Amiri, M., Basiri, M., Eskandary, H., Akbarnejad, Z., Esmaeeli, M., Ardakani, YM., Ahmadi-Zeidabadi., M. 2018. Cytotoxicity of carboplatin on human glioblastoma cells is reduced by the concomitant exposure to an extremely low-frequency electromagnetic field (50 Hz, 70 G). *Electromagnetic Biology and Medicine*, 37(3):138-145.
- Androjna, C., Fort, B., Zborowski, M., Midura, R. J. 2014. Pulsed electromagnetic field treatment enhances healing callus biomechanical properties in an animal model of osteoporotic fracture. *Bioelectromagnetics.* 35 (6):396-405. doi:10.1002/bem.21855.
- Atagün, G., Eren, Z., Gürkanlı, İ. 2011. Apoptoziste Mitokondrinin Rolü. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi.* 4 (2):49-53
- Athanasiou, A., Karkambounas, S., Batistatou, A., Lykoudis, E., Katsaraki, A., Kartsioni, T., Papalois, A., Evangelou A. 2007. The effect of pulsed electromagnetic fields on secondary skin wound healing: an experimental study. *Bioelectromagnetics*, 28(5):362-368.
- Barati, M., Fahimi, H., Farahmand, L., Madjid-Ansari, A. 2020. 1Hz 100mT Electromagnetic Field Induces Apoptosis in Breast Cancer Cells Through Up-Regulation of P38 and P21. *Multidisciplinary Cancer Investigation.* 4(1):23. doi: 10.30699/acadpub.mci.
- Belanger, M., Allaman, I., Magistretti, P.J., 2011. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab.* 14:724-738, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.016>.

- Bourre, J. 2004. Roles of unsaturated fatty acids (especially omega-3 fatty acids) in the brain at various ages and during ageing. *J of Nutrition Health Aging*. 8(3):163-75.
- Brenner, D., Mak, T. W. 2009. Mitochondrial cell death effectors. *Curr Opin Cell Biol*. 21:871-877.
- Brodeur, G. M. 2003. Neuroblastoma: Biological insights into a clinical enigma: Nature Reviews Cancer. 3:203-216.
- Burdge, G.C., Calder, P.C. 2015. Introduction to fatty acids and lipids. *World Rev Nutr Diet*, 112: 1-16.
- Burlacu, A. 2003. Regulation of apoptosis by Bcl-2 family proteins. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 7(3): 249-257.
- Cabadak, H. 2008. Hücre Siklusu ve Kanser. 9:3, 51-61
- Casey, N., Barber, C.N., Raben, D.M. 2019. Lipid Metabolism Crosstalk in the Brain: Glia and Neurons. *Front. Cell. Neurosci*. 21(13):212. doi: 10.3389/fncel.2019.00212.
- Chajes, V., Thiebaut, A. C., Rotival, M., Gauthier, E., Maillard, V., Boutron-Ruault, M. C. et al. 2008. Association between serum transmonounsaturated fatty acids and breast cancer risk in the E3NEPIC Study. *Am J Epidemiol*. 167 (11): 1312-20.
- Chang, H.Y., and Yang, X. 2000. Proteases for Cell Suicide: functions and Regulation of Caspases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4):821- 846.
- Chang, HY., Yang, X. 2000. Proteases for Cell Suicide: functions and Regulation of Caspases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4): 821-846.
- Chang, C. Y., Ke, D. S., Chen, J. Y. 2009. Essential fatty acids and human brain. *J Acta Neurol Taiwan*. 18(4): 231-41.
- Chinnaiyan, A.M., O'Rourke, K., Tewari, M., Dixit, VM. 1995. FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. 81(4):505-512.
- Cimini, A., Cristiano, L., Colafarina, S., Benedetti, E., Di Loreto, S., Festuccia, C., Amicarelli, F., Canuto, R. A., Ceru, M. P. 2005b. PPARgamma-dependent effects of conjugated linoleic acid on the human glioblastoma cell line (ADF). *Int J Cancer* 117:923-933.
- Cimmino, A. et al. 2005. miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 102, 13944.
- Collins, J.A., Schandl, C.A., Young, K.K., Vesely, J., Willingham, M.C. 1997. Major DNA Fragmentation Is a Late Event in Apoptosis. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 45:7, 923-934.
- Constantinescu, R. Constantinescu, A. T. Reichmann, H. and Janetzky, B. 2007. Neuronal differentiation and long-term culture of the human neuroblastoma line SH-SY5Y. *J Neural Transm Suppl*. 72:17-28.
- Crocetti, S., Beyer, C., Schade, G., Egli, M., Frohlich, J., Franco-Obregon, A. 2013. Low intensity and frequency pulsed electromagnetic fields selectively impair breast cancer cell viability. 8(9):e72944. doi: 10.1371/journal.pone.0072944.
- Çoskun, G. ve Özgür, H. 2011. Apoptoz ve nekrozun moleküler mekanizması. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*. 20(3), 145-58. doi:10.17827/AKTD.36347.
- De Senedetti, V., Bennett, W.P., Greenblatt, MS., Harris, CC. 1996. P53 tumor suppressor gene: Implications for iatrogenic cancer and cancer therapy. *Med Pediatr Oncol/ Suppl* 1:2-11.

- Demirel, C., Gözen, H. 2016. Düşük Frekanslı Elektromanyetik Alanın Tedavide Kullanımı. *Selçuk Tıp Dergisi*. 32(3): 70-7432(3): 70-7.
- Downward, J. 2004. PI 3-kinase, Akt and cell survival. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 15(2): 177-182
- Duval, C., Auge, N., Frisach, M.-F., Casteilla, L., Salvayre, R., Negre- Salvayre, A. 2002. Mitochondrial oxidative stress is modulated by oleic acid via an epidermal growth factor receptor-dependent activation of glutathione peroxidase. *J. Biochem*. 367, 889–894.
- Earnshaw, W.C., Martins, L.M., Kaufmann, S.H. 1999. Mammalian Caspases: Structure, Activation, Substrates, and Functions During Apoptosis. *Annual Review of Biochemistry*. 68: 383-424.
- Eröz, R., Karataş, A., Alkoç, O.A., Baltacı, D., Oktay, M., Çolakoğlu, S. 2012. Apoptozis hakkında bilinenler (Literatür Taraması). *Düzce Tıp Dergisi*. 14: 87-101.
- Ersöz, M. 2007. İnsan Meme Kanseri (MCF 7) ve Fare Fibroblast (L-929) Hücre Kültürlerinde Poliakrilik Asidin Toksisitesinin İncelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul: Yıldız Teknik Üniversitesi.
- Esrich, E., Solanas, M., Moral, R., Grau, L., Costa, I., Vela, E. E, R. 2008. Dietary lipids and breast cancer: Scientific clinical, anatomopathological and molecular evidences. *Revista Española de Obesidad*. 6(3):129-38.
- Ferlay, J., Shin, H., Bray, F., Forman, D., Mathers, C., Parkin, D.M. 2010. Estimates of Worldwide Burden Of Cancer In 2008: Globocan 2008. *International Journal of Cancer*, 127, 2893-2917.
- Ganesan, K., Gengadharan, A. C., Balachandran, C., Manohar, B. M., Puvanakrishnan, R. 2009. Low frequency pulsed electromagnetic field—A viable alternative therapy for arthritis. *Indian J Exp Biol*, 47(12):939-948.
- Gewies, A., 2003. Introduction to Apoptosis. *ApoReview*. 5. 1-26.
- Giulitti, F., Petrunaro, S., Mandatori, S., Tomaipitnca, L., de Franchis, V., D'Amore, A., Filippini, A., Gaudio, E., Ziparo, E., Giampietri, C. 2021. Anti-tumor Effect of Oleic Acid in Hepatocellular Carcinoma Cell Lines via Autophagy Reduction. *Front. Cell Dev. Biol*. 9:629182. doi: 10.3389/fcell.2021.629182.
- Giulitti, F., Petrunaro, S., Mandatori, S., Tomaipitnca, L., Franchis, V., D'Amore, A., Filippini, A., Gaudio, E., Ziparo, E., Giampietri, C. 2021. Anti-tumor effect of oleic acid in hepatocellular carcinoma cell lines via autophagy reduction. *Front. Cell Dev. Biol*. 9:629182. doi: 10.3389..
- Green, D.R., Kroemer, G. 2009. Cytoplasmic functions of the tumour suppressor p53. *Nature*. 458(7242):1127-1130.
- Gregory, S., Adler, S. 2000. Suppression of telomerase activity and cytokine messenger RNA levels in acute myelogenous leukemia cells in vivo in patients by amifostine and interleukin 4. *Clinical Cancer Research*. 6: 807-812.
- Gross, A., McDonnell, J.M., Korsmeyer, S.J. 1999. BCL2 family members and the mitochondria in apoptosis. *Genes&Development*. 13, 1899-1911.
- Gümüşay, M., Gülbağça, F., Saygılı, S., Aydemir, I., Kaya, A., Tuğlu, M. İ. 2016. Darbeli Elektromanyetik Alan ve Darbeli Radyofrekans Uygulamalarının Sıçanlarda Yara İyileşme Etkilerinin Karşılaştırması. *Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO 16)*. 27-29 Ekim, Antalya.

- Hao, Y. H., Zhao, Li. ve Peng, R. Y. 2018. Effects of Electromagnetic Radiation on Autophagy and its Regulation. *Biomed Environ Sci*, 31(1): 57-65.
- Herrmann, M., Kalden, J.R. 2003. Apoptosis and autoimmunity.
- Hu, X. 2003. Proteolytic signaling by TNF α : Caspase activation and degradation. *Cytokine*. 21(6): 286-294.
- Huang, X., Wu, W., Yang, W., Qing, X. ve Shao, Z., 2020, Surface engineering of nanoparticles with ligands for targeted delivery to osteosarcoma, *Colloids Surf B Biointerfaces*, 190, 110891.
- Hug, K., ve Rösli, M. 2012. Therapeutic Effects of Whole-Body Devices Applying Pulsed Electromagnetic Fields (PEMF): A Systematic Literature Review. *Bioelectromagnetics*, 33: 95-105.
- Hughes-Fulford, M., Chen, Y., Tjandrawinata, R.R. 2001. Fatty acid regulates gene expression and growth of human prostate cancer PC-3 cells. *Carcinogenesis*. 22 (5): 701-7.
- Igney, F.H., Krammer, P.H. 2002. Death and Anti-Death: Tumour Resistance To Apoptosis. *Nat Rev Cancer*. 2(4):277-288
- International Commission on Non-ionizing Radiation Protection. 1998. Guidelines for Limiting exposure to Time-Varying Electric, Magnetic and Electromagnetic Fields (UP TO 300 GHZ) *Health Physics*, 74 (4):494-522.
- Jiang, L., Wang, W., He, Q., Wu, Y., Lu, Z., Sun, J., et al. 2017. Oleic acid induces apoptosis and autophagy in the treatment of tongue squamous cell carcinomas. *Sci. Rep.* 7:11277. doi: 10.1038/s41598-017-11842-5.
- Jiang, Y. 2018. A Unipolar Pulse Electromagnetic Field Apparatus for Magnetic Therapy: design, simulation and development. *IEEE Instrumentation and Measurement Magazine* 21(5):41-48. doi:10.1109/MIM.2018.8515707.
- Joshi, S., Guleria, R., Pan, J., DiPette, D., Singh, U. S. 2006. Retinoic acid receptors and tissue-transglutaminase mediate short-term effect of retinoic acid on migration and invasion of neuroblastoma SH-SY5Y cells, *Oncogene*, 25, 240- 247.
- Julien, O., Wells, J.A. 2017. Caspases and their substrates. *Cell Death Differ.* 24(8):1380-1389.
- Kane, A.B. 1995. Redefining cell death. *Am J Pathol.* 146:1-2.
- Kannan, K., Jain SK. 2000. Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*. 7(27):153-163.
- Karakurt, S. ve Adali, O. 2016. Tannic Acid Inhibits Proliferation, Migration, Invasion of Prostate Cancer and Modulates Drug Metabolizing and Antioxidant Enzymes, *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 16 (6), 781-789.
- Kaszuba-Zwońska, J., Nowak, B., Guzdek, P., Gil, K. 2018. Cell viability changes in cultured H4 glioma cells upon low frequency pulsed electromagnetic field (7Hz, 30mT) exposure in flow cytometry analysis. *EMF-Med 1st World Conference on Biomedical Applications of Electromagnetic Fields (EMF-Med)*. FESB, University of Split. doi:10.23919/EMF-MED.2018.8526058.
- Kim, J. H., Quilantang, N. G., Kim, H. Y., Lee, S. ve Cho, E. J. 2019. Attenuation of hydrogen peroxide-induced oxidative stress in SH-SY5Y cells by three flavonoids from *Acer okamotoanum*. *Chemical Papers*, 73: 1135–1144.
- Kim, J., Ha, C. S., Lee, H. J. 2010. Song K. Repetitive exposure to a 60-Hz time-varying magnetic field induces DNA double-strand breaks and apoptosis in

- human cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;400(4):739-44. DOI: 10.1016/j.bbrc.08.140
- Klumpp, S., Selke, D., Ahlemeyer, B., Schaper, C., Krieglstein, J. 2002. Relationship between protein phosphatase type-2C activity and induction of apoptosis in cultured neuronal cells. *Neurochem. Int.* 41, 251–259.
- Kohli, H., Srivastava, S., Oza, M., Chouhan, S., Verma, S., Bansal, A., Kumar, B. and Sharma, S. K. 2020. Design and Study of Novel Tunable ELF-PEMF System for Therapeutic Applications. *IETE Journal of Research.* 3-46. doi:10.1080/03772063.2020.1725661.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. 2005. Cellular adaptations, cell injury, and cell death. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Philadelphia PA: Elsevier. ISBN: 0721601871.
- Lewin, B. 2004. Genes VIII. (Ed: Challice, J., Carlson, G., Zeigler, S., Dudonis, C. Pearson Prentice Hall, USA, Chapter 29, 843-882.
- Li, S., Zhou, T., Li, C., Dai, Z., Che, D., Yao, Y., et al. 2014. High metastatic gastric and breast cancer cells consume oleic acid in an AMPK dependent manner. *PLoS ONE* 9:e97330. doi: 10.1371/journal.pone.0097330.
- Liu, P., Cheng, H., Roberts, T.M., Zhao, J.J. 2009. Targeting the phosphoinositide 3-kinase pathway in cancer. *Nature Reviews Drug Discovery*, 8 (8), 627-644.
- Livak, K. J. ve Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) Method, *Methods*, 25 (4), 402-408.
- Lukas, J., Lukas, C., Bartek, J. 2004. Mammalian cell cycle checkpoints: signalling pathways and their organization in space and time. *DNA Repair*, 3, 997-1007.
- Lukiw, W. J., Papolla, M., Palacios Pelaez, R. and Bazan, N. G. 2005. Alzheimer's disease a dysfunction in cholesterol and lipid metabolism. *Cell. Mol. Neurobiol.* 25: 475-483.
- Lumachi, F., Basso, S. 2002. Apoptosis: life through planned cellular death regulating mechanisms, control systems, and relations with thyroid diseases. *Thyroid*, 12:1, 27-34.
- Maan, M., Peters, J. M., Dutta, M., and Patterson, A. D. 2018. Lipid metabolism and lipophagy in cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 504, 582–589. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.097.
- Maestre, I., Jordan, J., Calvo, S., Reig, J.A., Cena, V., Soria, B., Prentki, M., Roche, E. 2003. Mitochondrial dysfunction is involved in apoptosis induced by serum withdrawal and fatty acids in the beta-cell line INS-1. *Endocrinology* 144, 335–345.
- Majno, G., Joris, I. 1995. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol*, 146(1): 3-15.
- Maris, J. 2007. Hogatory M. Bagatell R. Cohn S. Neuroblastoma: Children Hospital Philadelphia and University of Pennsylvania School of medicine. 369: 2106-20
- Markov, M. S. 2007. Pulsed electromagnetic field therapy history, state of the art and future. *The Environmentalist*, 27(4), 465-475.
- Martínez, J., Gutiérrez, A., Casas, J., Llado, V., López-Bellan, A., Besalduch, J. 2005. The repression of E2F-1 is critical for the activity of Minerval against cancer. *J Pharmacol Exp Ther*, 315 (1): 466-74.

- Matsuzawa, A., and Ichijo, H. 2001. Molecular Mechanisms of the Decision between Life and Death: Regulation of Apoptosis by Apoptosis Signal-Regulating Kinase. *1. The Journal of Biochemistry*, 130(1): 1-8.
- Menéndez, J.A., del Mar Barbacid, M., Montero, S., Sevilla, E., Escrich, E., Solanas, M. 2001. Effects of gamma-linolenic acid and oleic acid on paclitaxel cytotoxicity in human breast cancer cells. *Eur J Cancer*, 37 (3): 402-13.
- Mercantepe, T., Tümkaya, L., Gökçe, MF., Topal, ZS., Esmer, E. 2018. 900 MHz Elektromanyetik Alanın Serebellum Üzerine Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi, 52(2):129-134.
- Mermer, M., Yıldiran, H. 2020. Parkinson Hastalığı Patogenezinde Esansiyel Yağ Asitleri ve Kolesterolün Etkileri. *SdÜ Sağlık Bilimleri Dergisi* 11(1). 10.22312/sdusbed.626176.
- Milgram, J., Shahar, R., Levin-Harrus, T., Kass, P. 2004. The effect of short, high intensity magnetic field pulses on the healing of skin wounds in rats. *Bioelectromagnetics*, 25(4), 271-277.
- Miyakoshi, J., Takemasa, K., Takashima, Y., Ding, G. R., Hirose, H., & Koyama, S. 2005. Effects of exposure to a 1950 MHz radio frequency field on expression of Hsp70 and Hsp27 in human glioma cells. *Bioelectromagnetics*, 26(4), 251-257.
- Mohsen, H., El-Dahshan, E.-S. A., El-Horbaty, E.-S. M., Salem, A.-B. M. J. F. C., & Journal, I. 2018. Classification using deep learning neural networks for brain tumors. *Future Computing and Informatics Journal*, 3(1), 68-71.
- Nagata, S. 1997. Apoptosis by death factor. *Cell*. 88:355-365.
- Nagata, S. 1999. Fas ligand-induced apoptosis. *Annu Rev Genet*. 33:29-55.
- Natali, F., Siculella, L., Salvati, S., Gnoni, G.V. 2007. Oleic acid is a potent inhibitor of fatty acid and cholesterol synthesis in C6 glioma cells. *Journal of Lipid Research*. 48. doi: 10.1194/jlr.M700051-JLR200.
- Niki, E. 2014. Biomarkers of lipid peroxidation in clinical material. *Biochim Biophys Acta*, 1840: 809-817.
- Niso-Santano, M. 2015. Novel Inducers of BECN1-independent Autophagy: Cis-Unsaturated Fatty Acids. *Autophagy*. 11, 575-577.
- Notarnicola, M., Tutino, V., De Nunzio, V., Dituri, F., Caruso, M. G., and Giannelli, G. 2017. Dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids inhibit tumor growth in transgenic ApcMin/+ mice, correlating with CB1 receptor Up-Regul. *Int J Mol Sci*. 18(3): 485. doi: 10.3390/ijms18030485.
- Offer, H., Erez, N., Zurer, I., Tang, X., et al. 2002. The onset of p53-dependent DNA repair or apoptosis is determined by the level of accumulated damaged DNA. *Carcinogenesis* 23(6): 1025-32.
- Otsuki, Y., Li, Z., Shibata, M.A. 2003. Apoptotic Detection Methods from Morphology to Gene. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry*, 38:3, 275-340.
- Öztürk, F., 2002. Apoptosis. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(2):143-148.
- Özvaran, MK. 2004. Malign mezotelyomada gen tedavisi. *Toraks Dergisi*, 5 (2): 110-115.
- Pak, E. J., Son, G. D., Yoo, B. S. 2014. Cadmium inhibits neurite outgrowth in differentiating human SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Int J Toxicol*. 33:412-8.
- Parisi, L. R., Morrow, L. M., Visser, M. B., and Atilla-Gokcumen, G. E. 2018. Turning the spotlight on lipids in non-apoptotic cell death. *ACS Chem Biol* 13: 506-515.

- Park, M.T., Lee, S.J. 2002. Cell Cycle and Cancer. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 36:1, 60-65.
- Pawluk, W. ve Layne, C. 2017. Power Tools for Health: How pulsed magnetic fields (PEMFs) help you. FriesenPress, Victoria, pp .291.
- Peter, M.E., Heufelder, A.E., Hengartner, M.O. 1997. Advances in apoptosis research. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 94(24):12736-12737.
- Peter, M.E., Heufelder, A.E., Hengartner, M.O. 1997. Advances in apoptosis research. Proceeding of the National Academy Sciences of the USA, 94, 12736-12737.
- Pistritto, G., Trisciuglio, D., Cecil, C., Garufi, A., D'Orazi, G. 2016. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies. *Aging*. 8(4): 603-619. doi: 10.18632/aging.100934
- Pitoli, C., ve ark. 2019. p53-Mediated Tumor Suppression: DNA-Damage Response and Alternative Mechanisms. *Cancers (Basel)* 11(12):1983. doi:10.3390/cancers11121983.
- Pizato, N., Luzete, B. C., Kiffer, L. F. M. V., Corrêa, L. H., de Oliveira Santos, I., Assumpção, J. A. F., Ito, M. K., and Magalhães, K. G. 2018. Omega-3 docosahexaenoic acid induces pyroptosis cell death in triple-negative breast cancer cells. 8(1):9775. doi: 10.1038/s41598-018-27850-y.
- Poniedzialek, B., Rzymiski, P., Nawrocka-Bogusz, H., Jaroszyk, F., Wiktorowicz, K. 2013. The effect of electromagnetic field on reactive oxygen species production in human neutrophils in vitro. *Electromagnetic biology and medicine*, 32(3), 333-341.
- Preisler, H., Li, B., Yang, J., Huang, R., Devemy, E., Venugopal, P., Tao, M., Chopra, H., Gregory, S., Adler, S. 2000. Suppression of telomerase activity and cytokine messenger RNA levels in acute myelogenous leukemia cells in vivo in patients by amifostine and interleukin 4. *Clinical Cancer Research*, 6: 807-812.
- Puertollano, M.A., de Pablo, M.A., Alvarez de Cienfuegos, G. 2003. Polyunsaturated fatty acids induce cell death in YAC-1 lymphoma by a caspase-3-independent mechanism. *Anticancer Res*, 23 (5A): 3905-10.
- Raychaudhuri, S. 2010. A minimal model of signaling network elucidates cell-to-cell stochastic variability in apoptosis. *PLoS One*. 5: e11930.
- Reale, M., Kamal, M. A., Patruno, A., et al. 2014. Neuronal Cellular Responses to Extremely Low Frequency Electromagnetic Field Exposure: Implications Regarding Oxidative Stress and Neurodegeneration. *Plos One*. 15:9(8):e104973. doi: 10.1371/journal.pone.0104973.
- Rio, D. C., Ares, M., Jr., Hannon, G. J. ve Nilsen, T. W. 2010. Purification of RNA using TRIzol (TRI reagent), Cold Spring Harb Protoc, 2010 (6). doi: 10.1101/pdb.prot5439.
- Roberts, AW., Seymour, JF., Brown, JR., Wierda, WG., Kipps, TJ., Khaw, SL., Carney, DA., He, SZ., Huang, DCS., Xiong, H., Cui, Y., Busman, TA., McKeegan, EM., Krivoshik, AP., Enschede, SH., Humerickhouse, R. 2011. Substantial Susceptibility of Chronic Lymphocytic Leukemia to BCL2 Inhibition: Results of a Phase I Study of Navitoclax in Patients With Relapsed or Refractory Disease. *American Society of Clinical Oncology*, 30:488-496.
- Romano, A., Koczwaraa, J.B., Gallellia, C.A., Vergarab, D., Bonaventurac, M.V.M., Gaetania, S., Giudettid, A.M. 2017. Fats for thoughts: An update on brain fatty

- acid metabolism. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 84 40-45, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2016.12.015>.
- Rust, C., Gores, G.J. 2000. Apoptosis and liver disease. *The American journal of medicine*. 108: 567-574.
- Sadiquov, S. 2001. Canlılarda Moleküler Düzenleme Mekanizmaları. Moleküler Biyolojide Özel Konular, Erciyes Üniversitesi Yayınları, No:127, Kayseri.
- Sales-Campos, H., Souza, P. R., Peghini, B. C., Da Silva, J. S., and Cardoso, C. R. 2013. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Mini. Rev. Med. Chem.* 13, 201–210. doi: 10.2174/138955713804805193.
- Salvesen, G.S., Riedl, S.J. 2008. Caspase Mechanisms. 615:13-23. doi: 10.1007/978-1-4020-6554-5_2.
- Sawaya, R. and Alfred Yung, W. K. 2007. Tumors Of The Brain And Spine. Springer, 2- 21.
- Saydere, A. C. 2009. Analysis of Isamp gene as a tumor supressor in neuroblastoma. 2009. Yüksek Lisans Tezi, Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, İstanbul. s.74
- Schmid, M., Carson, D.A. 2001. Cell cycle regulation and hematological disorders. In: Beutler E, Lichtman MA, Caller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds): Williams Hematology, sixth edition, McGraw-Hill Company, New York, 131-41.
- Shaikh, I. A., Brown, I., Wahle, K. W. & Heys, S. D. 2010. Enhancing Cytotoxic Therapies for Breast and Prostate Cancers with Polyunsaturated Fatty Acids. *Nutr Cancer*. 62, 284–296.
- Shield, M.A., Mirkes, P.E. 1998. Apoptosis. *Handbook of Developmental Neurotoxicology* (Chapter 8), Academic Press, 159-188.
- Shipley, M. M., Mangold, C. A. & Szpara, M. L. 2016. Differentiation of the SH-SY5Y Human Neuroblastoma Cell Line. *J Vis Exp*, 53193.
- Shupak, N. M., Prato, F. S., Thomas, A. W. 2004. Human exposure to a specific pulsed magnetic field: Effects on thermal sensory and pain thresholds. *Neurosci Lett* 363(2):157-162.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. 2020. Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70(1), 7-30. doi:10.3322/caac.21590.
- Singh, R., ve ark. 2019. Regulation of apoptosis in health and disease: the balancing act of BCL-2 family proteins. *Nat Rev Mol Cell Biol* 20(3): 175-193.
- Singh, S. K., Clarke, I. D. 2003. Terasaki M, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*. 63:5821-5828.
- Spinelli, W., Sonnenfeld, K. H., Ishii, D. N., 1982. Effects of phorbol ester tumor promoters and nerve growth factors on neurite outgrowth in cultured human neuroblastoma cells, *Cancer Research*, 42, 5067-5073.
- Spix, C., Pastore, G., Sankila, R., Stiller, C. A., & Steliarova-Foucher, E. J. E. j. o. c. 2006. Neuroblastoma incidence and survival in European children (1978–1997): report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *European journal of cancer*, 42(13), 2081-2091.
- Sprick, M.R., and Walczak, H. 2004. The interplay between the Bcl-2 family and death receptor-mediated apoptosis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1644(2-3): 125-132.

- Strauch, B., Herman, C., Dabb, R., Ignarro, L. J. ve Pilla, A. A. 2009. Evidence-Based Use of Pulsed Electromagnetic Field Therapy in Clinical Plastic Surgery. *Surgery Journal*, 29(2):135-143.
- Sugiura, Y., Shimada, H., Seeger, R. C. et al. 1998. Matrix metalloproteinases -2 and -9 are expressed in human neuroblastoma: contribution of stromal cells to their production and correlation with metastasis. *Cancer Research* 58:2209-2216.
- Şeker, S., Çerezci, O. 2000. Radyasyon Kuşatması, Boğaziçi Üniversitesi Yayınevi-matbaası, İstanbul.
- Taşpınar, T. 2008. GSM 900 ve 1800 MHz telefonların oluşturduğu manyetik alanın hematolojik parametreler ve kemik iliği üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta.
- Toğar, B. 2013. Sağlıklı nöron ve N2A nöroblastom hücre kültürleri üzerine farnesen, zingiberen, gayazulen, kopaen ve siklosativen seskiterpenlerinin sitolojik, 104 biyokimyasal, ve genetik etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, s.109.
- Topal, O. 2016. Heparin Verilen Ratlarda Darbeli Elektromanyetik Alan Uygulamasının Kemik Defektlerinin İyileşmesi Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Tsacopoulos, M. 2002. Metabolic signaling between neurons and glial cells: a short review. *J. Physiol. (Paris)*. 96: 283-288.
- Tuysuz, M.Z., Kayhan, H., Yar-Saglam, A.S., Bagriacik, E.U., Yagci, M., Canseven, A.G. 2019. Cep Telefonu Maruziyetinden Kaynaklanan Radyofrekans Elektromanyetik Alanın Apoptoz Üzerine Etkisi. 16(1):123-129.
- Vadalà, M., Morales-Medina, J. C., Vallelunga, A., Palmieri, B., Laurino, C. ve Iannitti, T. 2016. Mechanisms and therapeutic effectiveness of pulsed electromagnetic field therapy in oncology. *Cancer Medicine*, 5(11):3128-3139.
- Vajjhala, P.R., Lu, A., Brown, D.L., ve ark. 2015. The inflammasome Adaptor ASC Induces Procaspase-8 Death Effector Domain Filaments. *J Biol Chem*. 290(49):29217-29230.
- Vermeulen, K., Van Bockstaele, D.R., Berneman, Z.N. 2003. Cell cycle and apoptosis,” *Cell Proliferation*, 36, 165-175.
- Vescovi, A.L., Galli, R., Reynolds, B.A. 2006. Brain Tumour Stem Cells. *Nature Reviews*, 6, 425-436.
- Vousden, K.H., Lu, X. 2002. Live or let die: the cells response to p53. *Nat Rev Cancer*. 2:594604.
- Wang, H. ve Zhang, X. 2017. Magnetic Fields and Reactive Oxygen Species. *International journal of molecular sciences*, 18(10), 2175-219.
- Wang, W., Zhu, J., Lyu, F., Panigrahy, D., Ferrara, K. W., Hammock, B., and Zhang, G. 2014. ω -3 polyunsaturated fatty acids-derived lipid metabolites on angiogenesis, inflammation and cancer. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 113-115: 13-20.
- WHO. 1999. What are electromagnetic fields?, <http://www.who.int/peh-emf/about/WhatisEMF/en/> (erişim : 27/03/2008)
- Wrede, C.E., Dickson, L.M., Lingohr, M.K., Briaud, I., Rhodes, C.J. 2002. Protein kinase B/Akt prevents fatty acid-induced apoptosis in pancreatic b-cells (INS-1). *J. Biol. Chem*. 277, 49676-49684.

- Xie, Y., Hou, W., Song, X., Yu, Y., Huang, J., Sun, X., Kang, R., and Tang, D. 2016. Ferroptosis: Process and function. *Cell Death Differ* 23: 369-379.
- Xu, A., Wang, Q., Lin, T. 2020. Low-Frequency Magnetic Fields (LF-MFs) Inhibit Proliferation by Triggering Apoptosis and Altering Cell Cycle Distribution in Breast Cancer Cells. *21(8)*, 2952; <https://doi.org/10.3390/ijms21082952>
- Yamagata, K., Uzu, E., Yoshigai, Y., Kato, C., Tagami, M. 2021. Oleic acid and oleoylethanolamide decrease interferon- γ -induced expression of PD-L1 and induce apoptosis in human lung carcinoma cells. *European Journal of Pharmacology*. 252-8510. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174116>.
- Yao, H. R., Liu, J., Plumeri, D., Cao, Y. B., He, T., Lin, L., et al. 2011. Lipotoxicity in HepG2 cells triggered by free fatty acids. *Am. J. Transl. Res.* 3, 284-291.
- Yehuda, S., Rabinovitz, S., Mostofsky, D. 2005. Essential fatty acids and the brain: from infancy to aging. *Neurobiol Aging*. 26(1): 98-102.
- Yerlikaya, A., Dokudur, H. 2009. Protein yıkımının önemi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 35: 93-99.
- Yılmaz, İ. 2005. Erişkin ratlarda deneysel varikozel oluşturulması sonrası testislerde germ hücrelerinde apoptozis düzeylerinin yükselmesi ve yükselmiş olan apoptozisin varikoselektomi sonrası gerileme düzeyi ve süresinin TUNEL yöntemi ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İstanbul.
- Youdim, K. A, Martin, A., Joseph, J. A. 2000. Essential fatty acids and the brain: possible health implications. *Int J Dev Neurosci.* 18(4-5): 383-99.
- Yuan, L., Liu, S., Bai, X., Gao, Y., Liu, G., Wang, X., Liu, D., Li, T., Hao, A., Wang, Z. 2016. Oxytocin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammation in microglial cells and attenuates microglial activation in lipopolysaccharide-treated mice. *J Neuroinflammation*. 23(1):77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2014.06.004>
- Zeng, L., Biernacka, K. M., Holly, J. M., Jarrett, C., Morrison, A.A., Morgan, A. 2010. Hyperglycaemia confers resistance to chemotherapy on breast cancer cells: the role of fatty acid synthase. *Endocr Relat Cancer*; 17 (2):539-51.
- Zhu, Y., Schwarz, S., Ahlemeyer, B., Grzeschik, S., Klumpp, S., Kriegstein, J. 2005. Oleic acid causes apoptosis and dephosphorylates Bad. *Neurochem. Int.* 46:127-135.
- Zilfou, J.T., Lowe, S.W. 2009. Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 1(5):a001883 doi: 10.1101/cshperspect.a001883.
- Zou, J., Chen, Y., Qian, J., Yang, H. 2017. Effect of a low-frequency pulsed electromagnetic field on expression and secretion of IL-1b and TNF-a in nucleus pulposus cells. *45(2)*:462-47.

ÖZGEÇMİŞ

EBRU ÇETİN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2020-2023	Mühendislik Fakültesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Antalya
Lisans	Namık Kemal Üniversitesi
2014-2018	Mühendislik Fakültesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği, Tekirdağ

ESERLER

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

Çetin E., Karakurt S. ve Gökçek-Saraç Ç. (2022). Possible Effects of Long-Term Pulsed Electromagnetic Fields Exposure on Neuronal Apoptosis Mechanisms. 10. Uluslararası Hipokrat Tıp ve Sağlık Bilimleri Kongresi. 16-17 Aralık, Online (Sözlü sunum).