



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOPAMİN VE RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ İLE
5-FLUOROURASİL KOMBİNASYONUNUN İNSAN MEME KANSERİ
HÜCRE SERİSİNDE SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

MUTLU ÜNAL

DANIŞMAN

DOÇ. DR. YAVUZ ERDEN

BARTIN-2025



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**DOPAMİN VE RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ İLE 5-FLUOROURASİL
KOMBİNASYONUNUN İNSAN MEME KANSERİ HÜCRE SERİSİNDE
SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mutlu ÜNAL

JÜRİ ÜYELERİ

Danışman :

Üye :

Üye :

BARTIN-2025

KABUL VE ONAY

Mutlu ÜNAL tarafından hazırlanan “DOPAMİN VE RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ İLE 5-FLUOROURASİL KOMBİNASYONUNUN İNSAN MEME KANSERİ HÜCRE SERİSİNDE SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma, 14.08.2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Zafer CEYLAN

Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Yavuz ERDEN danışmanlığında hazırlamış olduğum “DOPAMİN VE RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ İLE 5-FLUOROURASİL KOMBİNASYONUNUN İNSAN MEME KANSERİ HÜCRE SERİSİNDE SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

28.04.2025

Mutlu ÜNAL

ÖN SÖZ

Tez araştırmamı destekleyen ve akademik gelişim sürecimin tüm aşamalarında katkı ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Yavuz ERDEN'e, Moleküler Biyoloji ve Genetiğin temel ilkelerini öğreten ve sevdiren Bartın Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma, hiçbir zaman haklarını ödeyemeyeceğim anneme, merhum babama ve kardeşlerime, benden desteğini ve sevgisini esirgemeyen ve tez çalışmalarım süresince gösterdiği anlayış ve fedakarlıktan dolayı, sevgili eşim Özlem ÜNAL'a, örnek olmak adına ortak vakitlerimizi kullandığım kızlarım, İpek Duru ve Nehir Gülce'ye sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Bu tez, Bartın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (Proje no: 2024-FEN-İHP-001) tarafından desteklenmiştir.

Mutlu ÜNAL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DOPAMİN VE RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ İLE 5-FLUOROURASİL KOMBİNASYONUNUN İNSAN MEME KANSERİ HÜCRE SERİSİNDE SİTOTOKSİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mutlu ÜNAL

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Yavuz ERDEN

Bartın-2025, sayfa: 55

Dopamininin (DA), merkezi ve periferik alanlarda birçok işlevi vardır. Bu işlevlerine ek olarak son zamanlarda DA ve kanser gelişimi arasındaki kuvvetli kanıtlar, bu molekülün kanser tedavisinde dikkatleri üzerine çekmesine neden olmuştur. Bu çalışmada DA ve dopamin 1 ve dopamin 2 reseptör (DR1 ve DR2) antagonistlerinin, insan meme kanseri hücreleri üzerine muhtemel sitotoksik ve genotoksik etkileri ile, bileşiklerin standart kemoterapi ajanı olan 5-Fluorourasil (5-FU) ile sinerjik etkinliği değerlendirildi.

Çalışmada MCF-7 hücre serisi kullanıldı. Hücreler dulbecco's modified eagle medium (DMEM) ile kültüre edildi. Bileşiklerin hücre canlılık düzeylerine etkisi 24, 48 ve 72 saat uygulamalar sonrasında kolorimetrik analizlerle belirlendi. Sonrasında belirlenen doz ve zaman dönemi dikkate alınarak DA, DR1 ve DR2 antagonistleri ile 5-FU'nun kombine uygulamaları gerçekleştirildi. Bileşiklerin tekli ve kombine uygulamalarının DNA hasar düzeyine etkileri tek hücre jel elektroforezi ile analiz edildi.

Çalışma sonuçları DA ve seçici DR1 antagonisti SCH 23390 (SCH)'ın özellikle 72. saatte, seçici DR2 antagonisti L-741,626 (L741)'nın ise her üç zaman diliminde canlılığı anlamlı düzeyde azalttığını gösterdi. İlgili bileşiklerin 5-FU ile kombine uygulamalarında DA ve

SCH 25 μM 'lık dozda, L741 ise uyguladığımız her iki dozda da (10 μM ve 25 μM), 5-FU'ya kıyasla hücre canlılığını anlamlı ölçüde azalttı. DNA hasarı sonuçlarına göre 1 saatlik uygulamalarda kombineler, 5-FU'ya kıyaslandığında bütün parametrelerde anlamlı düzeyde DNA hasarını düşürdü. Ancak 24 saatlik uygulamalarda bu etkinin belirgin şekilde azaldığı ve istatistiksel açıdan anlamlı bir sinerjik etkinin gözlenmediği tespit edildi

Bulgular, DA'nın meme kanseri hücrelerinde kemoterapinin etkinliğini artırmada rol oynayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Dopamin, dopamin reseptör antagonisti, genotoksisite, L-741,626, meme kanseri, SCH-23390, sitotoksisite, 5-fluorouracil

Bilim Alanı Kodu: 401.02.00, 401.02.01

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

INVESTIGATION OF CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECTS OF THE COMBINATION OF DOPAMINE AND RECEPTOR ANTAGONISTS WITH 5-FLUOROURACIL ON HUMAN BREAST CANCER CELL LINES: AN IN VITRO STUDY

Mutlu ÜNAL

Bartın University

Graduate School

Department of Molecular Biology And Genetics

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yavuz ERDEN

Bartın-2025, pp: 55

Dopamine (DA) has many functions in central and peripheral areas. In addition to these functions, recent strong evidences between DA and cancer development have caused this molecule to attract attention in cancer treatment. In this study, the possible cytotoxic and genotoxic effects of DA and dopamine 1 and dopamine 2 receptor (DR1 and DR2) antagonists on human breast cancer cells and the synergistic activity of the compounds with the standard chemotherapy agent 5 Fluorouracil (5-FU) were evaluated.

MCF-7 cell line was used in the study. Cells were cultured with Dulbecco's modified eagle medium (DMEM). The effects of the compounds on cell viability levels were determined by colorimetric analyses after 24, 48 and 72 hours of application. Then, combined applications of DA, DR1 and DR2 antagonists and 5-FU were performed considering the determined dose and time period. The effects of single and combined applications of the compounds on DNA damage levels were analyzed by single cell gel electrophoresis.

The study results showed that DA and selective DR1 antagonist SCH 23390 (SCH) significantly reduced viability, especially at the 72nd hour, while selective DR2 antagonist

L-741,626 (L741) significantly reduced viability at all three time periods. In the combined applications of the relevant compounds with 5-FU, DA and SCH at a dose of 25 μ M, and L741 at both doses (10 μ M and 25 μ M) significantly reduced cell viability compared to 5-FU. According to the DNA damage results, in 1-hour applications, the combinations significantly reduced DNA damage in all parameters compared to 5-FU. However, it was found that this effect decreased significantly in 24-hour applications and no statistically significant synergistic effect was observed.

The findings indicate that DA may play a role in increasing the effectiveness of chemotherapy in breast cancer cells.

Keywords: Breast cancer, cytotoxicity, dopamine, dopamine receptor antagonist, genotoxicity, L-741,626, SCH-23390, 5-fluorouracil

Scientific Field Code: 401.02.00, 401.02.01

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
BEYANNAME	iii
ÖN SÖZ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
KISALTMALAR	xiii
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Dopamin.....	3
1.1.1 Dopamin'in Kimyasal Yapısı.....	4
1.1.2 Santral Sinir Sistemindeki Dopaminergic Yolaklar	5
1.1.3 Dopamin Reseptörleri.....	7
1.1.4 Dopamin Reseptör Antagonistleri.....	8
1.1.5 Sinir İletiminde Dopamin	9
1.1.6 Dopaminin Diğer Fizyolojik ve Davranışsal Etkileri	10
1.2 Meme Kanseri	12
1.2.1 Meme Kanseri Tipleri.....	13
1.2.2 Meme Kanseri Tedavi.....	14
1.3 Dopamin ve Meme kanseri.....	15
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	16
3. MATERYAL VE METOT.....	18
3.1 Çalışmada Kullanılan Hücre Serisi ve Kültür Ortamları.....	18
3.2 Hücre Kültürü	19
3.2.1 Hücrelerin Alt Kültüre Alınması.....	19
3.2.2 Hücrelerin Stoklanması	19
3.2.3 Bileşiklerin Hazırlanması	20
3.3 Sitotoksikite Analizi.....	20

3.4 DNA Hasar Düzeyinin Belirlenmesi	22
3.5. İstatistiksel Analiz	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	24
4.1 Sitotoksisite Analiz Sonuçları	24
4.1.1 Bileşiklerin Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri.....	24
4.1.1.1 5-Florourasil'in MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi.....	24
4.1.1.2 Dopamin'in MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi	25
4.1.1.3 L-741.626'nın MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi.....	26
4.1.1.4 SCH 23390'ın MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi.....	26
4.1.2 Kombine Uygulamaların Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkisi	27
4.1.2.1 5-Florourasil ve Dopaminin Hücre Canlılığına Etkisi	27
4.1.2.2 5-Florourasil ve L741,626'nin Hücre Canlılığına Etkisi.....	28
4.1.2.3 5-Florourasil ve SCH 22390'ın Hücre Canlılığına Etkisi	29
4.2 COMET Analiz Sonuçları	30
4.2.1 Tail DNA % Sonuçları	32
4.2.2 Tail Intensty Sonuçları.....	33
4.2.3 Tail Lenght Sonuçları.....	35
4.2.4 Tail Moment Sonuçları	36
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	43
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
No	No
1.1: Katekolamin biyosentez yolu.....	5
1.2: Beyindeki dört ana dopaminerjik yol.....	6
1.3: Dopaminerjik sinaps ve DA metabolizması.....	10
3.1:MTT analiz yönteminin grafik gösterimi.....	21
3.2: MTT analizi sonrası plaka görseli.....	21
4.1: 5-FU uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%)	25
4.2: DA uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%)	25
4.3: L741 uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%)	26
4.4: SCH uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%)	27
4.5: 5-FU ve DA kombinasyonunun MCF-7 hücre canlılığı üzerindeki etkileri.....	28
4.6: 5-FU ve L741 kombinasyonunun MCF-7 hücre canlılığı üzerindeki etkileri.....	29
4.7: 5-FU ve SCH kombinasyonunun MCF-7 hücre canlılığı üzerindeki etkileri	30
4.8: Comet analizine ait mikroskop görüntüleri.....	31
4.9: Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde Tail DNA % değişimleri	32
4.10: Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TD değişimleri ...	33
4.11: Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TI değişimleri.....	34
4.12: Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TI değişimleri.....	34
4.13: Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TL değişimleri.....	35
4.14: Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TL değişimleri....	36
4.15 Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TM değişimleri.....	37
4.16 Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TM değişimleri....	37

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
No	No
1.1: Farklı dopamin reseptörlerinin perspektifi ve bilgisi	8
3.1: MCF-7 besleme medyum içeriği.....	18



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

μ L	: mikrolitre
μ M	: mikromolar
mL	: mililitre
gr	: gram
mg	: miligram
mM	: milimolar
ng	: nanogram
r	: serbestlik derecesi

KISALTMALAR

5-FU	: 5-Florourasil
AD	: aldehit dehidrogenaz
AMP	: adenzin monofosfat
AMPK	: AMP ile aktive olan protein kinaz K
COMT	: katekol- O -metil transferaz
DA	: dopamin
DR	: dopamin reseptörleri
DR1	: dopamin 1 reseptörleri
DR2	: dopamin 2 reseptörleri
DMEM	: dulbecco's modified eagle medium
FBS	: fetal sığır serumu
HER2	: insan epidermal büyüme faktörü reseptörü 2
GH	: büyüme hormonu
GBM	: glioblastoma
KKH	: kanser kök hücresi
MAO	: monamin oksidaz
MPT	: fosfat tamponlu solüsyon
NE	: norepinefrin
NF	: nükleaz free
PON2	: Paraoksonaz 2

PBS	: fetal sığır serumu
PFK	: prefrontal korteks
ROS	: reaktif oksijen sitresi
TD	: tail DNA%
TI	: tail intensity
TİM	: tümörle ilişkili makrofajlar
TL	: tail lenght
TM	: tail moment
TNBC	: bazal benzeri üçlü negatif meme kanseri
TRH	: tirotropin salgılatıcı hormon
TSH	: tiroid stimulan hormon
VEGF	: vasküler endotelial büyüme faktör
VTA	: ventral tegmental alan

1.GİRİŞ

Kanser, hücre bölünmesini kontrol eden mekanizmaların aksaklığa uğrayarak, kontrolsüz hücre proliferasyonu ile kendini gösteren, günümüz toplumunun önde gelen sağlık sorunlarından biridir. Dünya genelinde meme kanseri kadınlarda morbiditesi en yüksek ve mortalitesi en yaygın kanser türüdür. 2020 yılında bu kanser türü 2.3 milyon tanı ve 685 bin ölüm ile sonuçlanmıştır (Jantre ve Mainkar, 2022). Kanser bu türü, erken yaşlardan itibaren görünmeye başlamaktadır. Türkiye’de de durum benzer şekildedir. 2018 Türkiye Birleşik Veri Tabanı verilerine göre meme kanseri kadınlarda; 25-49 yaş aralığında %37, 50-65 yaş aralığında ise %26 oranıyla en sık görülen kanser türüdür (Türkyılmaz vd., 2022).

Meme kanserinin oluşumunda genetik, yaş, cinsiyet, üreme, obezite, hormonal faktörler ve sigara kullanımı gibi değişkenler rol oynamaktadır (Suh vd., 1996; Kim vd., 2007). Meme kanseri alt tiplerinin gelişiminde de hormonal durumların etkili olduğu bilinmektedir (Tamimi vd., 2012). Östrojen reseptörü (ER), progesteron reseptörü (PR) ve insan epidermal büyüme faktörü reseptörü-2 (HER2) düzeyleri, meme kanseri alt tiplerinin belirlenmesinde klinik olarak kullanılan birincil belirteçlerdir (Lindström vd., 2012).

Meme kanseri tedavisinde, PR, ER ve HER2’yi hedef alan stratejiler, yanıt oranını ve sağkalımı iyileştirmiş olsa da anti-hormonal tedaviye uygun olmayan, kemoterapiye dirençli ve ilerlemiş hastalığı olan hastalar morbidite ve mortaliteyi azaltmak için sınırlı tedavi seçeneklerine sahiptir. Bu sınırlamalar yeni, etkili ve kişiselleştirilmiş terapötik müdahaleler geliştirmek için büyük teşvikler sağlar (Ben-Jonathan vd., 2022).

Diğer bir tedavi stratejisi olan kombinasyon kemoterapisi (veya polikemoterapi), geleneksel olarak nüks riskini önemli ölçüde azaltan bir alkilleyici ajan (siklofosfamid) ve antimetabolitlerin (metotreksat ve 5-florourasil) kombinasyonunu içermektedir (Bonadonna vd., 1976). 5-Fluorourasil (5-FU) kolon, rektum, meme, mide, pankreas, yumurtalık, mesane ve karaciğer kanseri dahil olmak üzere, çoklu solid tümörlerin tedavisinde antineoplastik bir ajan olarak kullanılan bir pirimidin analogudur. Bu bileşik, tedavi sırasında düşük oranda geçici serum aminotransferaz yükselmeleriyle ilişkilidir ve nadiren klinik olarak belirgin akut karaciğer hasarı vakalarıyla ilişkilendirilmiştir (Meteń-Mucha, 2001). Ayrıca kanser hücrelerinin heterojenitesi (reseptör profilinde farklılıklar ve onkogen ifade düzeyleri gibi)

göz önüne alındığında 5-FU gibi anti-metabolitlerin farklı birçok kanser alt tipine benzer etki göstermesi bu ilacın kullanım alanını genişletmektedir.

Hem bir nörotransmit hem de bir hormon olan DA, 1957 yılında Arvid Carlsson tarafından keşfinden sonra birçok sinyal yolağında kilit etki gösterdiği bildirilmektedir (Yeragani vd., 2010; Avşar, 2020; Yang vd., 2020). Son yıllarda yapılan çalışmalar, dopamin (DA) ve kanser arasındaki moleküler bağlantıyı giderek daha net ortaya koymakta olup, bu alandaki araştırmalar özellikle dopamin reseptörlerinin (DR) rolüne odaklanmaktadır (Ben-Jonathan vd., 2022; Grant vd., 2022).

Önceki çalışmalar, kanser hücrelerinde DR ekspresyonunda, normal hücrelere kıyasla farklılıklar olduğunu göstermektedir. DR1, meme kanseri vakalarının yaklaşık % 30'unda aşırı eksprese edilir ve ilerlemiş hastalık ve kısaltılmış hasta sağkalımı ile ilişkilidir (Ben-Jonathan vd., 2022). Yapılan çalışmalar bazı tümör hücrelerinde DR2 ekspresyonunun önemli ölçüde arttığını bildirmektedir (Senogles, 2007; Sarkar vd., 2022). Buna ek olarak diğer reseptör tiplerinin de kanser hücrelerinde farklı düzeylerde ifade edildiği bildirilmektedir. Örneğin, Rosas-Cruz ve arkadaşları (2022) MCF-7 hücreleri ile yaptıkları çalışmalarda DR4 ekspresyonunun normal dokuya kıyasla daha fazla ifade edildiğini bildirmektedir. (Rosas-Cruz vd., 2022). Meme kanserindeki DR1, cGMP/PKG yolu aracılığıyla sinyal verir ve aktivasyonu apoptoz, hücre istilasının inhibisyonu, doksorubisine karşı artan hassasiyet ve ksenograft büyümesinin baskılanması ile sonuçlanır (Borcherding vd., 2016). Farklı hücre serileri üzerine yapılan çalışmalarda, DA'nın kanser hücrelerinde ortaya koyduğu doğrudan etkiler kısmen aydınlatılmış olsa da diğer ilaçlarla kombine uygulamaları hakkında yeterli veri bulunmamaktadır.

Mevcut bilgiler göz önüne alındığında, standart bir kemoterapötik ajan olan 5-FU'nun DA ve DR antagonistleri ile sinerjik etki gösterip gösteremeyeceği, önemli bir araştırma sorusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada DA ve reseptör antagonistlerinin insan meme kanseri hücre serisinde 5-FU ile kombine kullanımının canlılığa ve DNA hasarına etkileri ilk defa araştırıldı. Sonuçlarımız, DR2 antagonisti olan L741'nin önemli düzeyde tekli ve kombine uygulamalarda meme kanseri hücrelerinde sitotoksositeye neden olduğunu ortaya koydu. Genotoksiste analizleri ise ilgili bileşiklerin 1 saatlik uygulamalarının DNA hasarını azalttığını gösterdi. Çalışma sonuçları DA ve reseptörlerinin kemoterapide olumlu etkiler ortaya koyabileceğini göstermektedir.

1.1 Dopamin

DA bitki ve hayvanlarda bulunan önemli bir katekolamin türüdür. 1957 yılında İsveçli bir farmakolog olan Arvid Carlsson tarafından keşfedildi. Carlsson yaptığı hayvan deneyleri ile DA ve hareket etme yeteneğimiz arasındaki rolü ilk kez tanımladı. Bu çalışmaları 2000 yılında Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'ne layık görüldü (Carlsson, 1959; Iversen ve Iversen, 2007). 1968 yılında bitkilerde de DA varlığı keşfedildi. Bu bileşiğin bitki büyümesi ve gelişmesinde rol oynadığı; kuraklık, tuzluluk, besin eksikliği gibi abiyotik etkilere karşı bitki büyümesini etkilediği bildirildi (Kimura, 1968; Kulma ve Szopa, 2007). Sonraki çalışmalar DA'nın canlılardaki önemini daha da pekiştirdi.

DA, bir nörotransmitter olmasının yanı sıra, sempatik sinirler, adrenal medulla, gastrointestinal sistem ve çeşitli nöronal olmayan hücreler tarafından da sentezlenen ve dolaşıma verilen bir hormondur (Sarkar vd., 2010). Diğer nörotransmitterlerin aksine merkezi sinir sisteminin dışında da yaygın bir etkiye sahiptir. Örneğin çevresel sinir sisteminde hormonların, kalp damar sisteminin, böbrek fonksiyonlarının, beyin ve bağırsaktaki bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesinde rol oynar. Ayrıca koku alma hücrelerinde ve retinada bulunur ve bu alanlarda önemli etkiler ortaya koyar. Öte yandan, gastrointestinal sistemde özellikle enterik sinir sistemi içinde bulunan hücreler tarafından sentezlenerek bağırsak motilitesi, kan akışı ve sindirim enzimlerinin salınımını etkiler. Bu mekanizmalar, sindirim sisteminin sağlıklı çalışmasında ve bağırsak mikrobiyotasının dengelenmesinde kritik öneme sahiptir (Zheng vd., 2021).

İnsanda DA, başta beyin ve böbrekler olmak üzere vücudun birçok organından salınır (Olivares-Hernández vd., 2021). En yoğun olarak beyinde, özellikle de ventral tegmental alan (VTA), striatum ve prefrontal korteks gibi bölgelerde bulunur (Jaber vd., 1996). DA nöronları, sayıca sinir nöronlarının 1/100.000'den az olmasına rağmen, temel beyin fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rollere sahiptir (Girault ve Greengard, 2004). Merkezi sinir sisteminde motor davranış, duygu, motivasyon, bilişsel hafıza, pozitif pekiştirme, çalışma belleği, öğrenme, dikkat ve ödül, gıda alımı ve hormon salgılanması gibi bir dizi fizyolojik ve davranışsal süreci düzenler (Goldman-Rakic, 1997; Carlsson vd., 2001; Solanto, 2002). DA genellikle zevk kimyasalı olarak kabul edilir çünkü beynin ödül sistemleriyle güçlü bir şekilde ilişkilidir (Schultz vd., 1993).

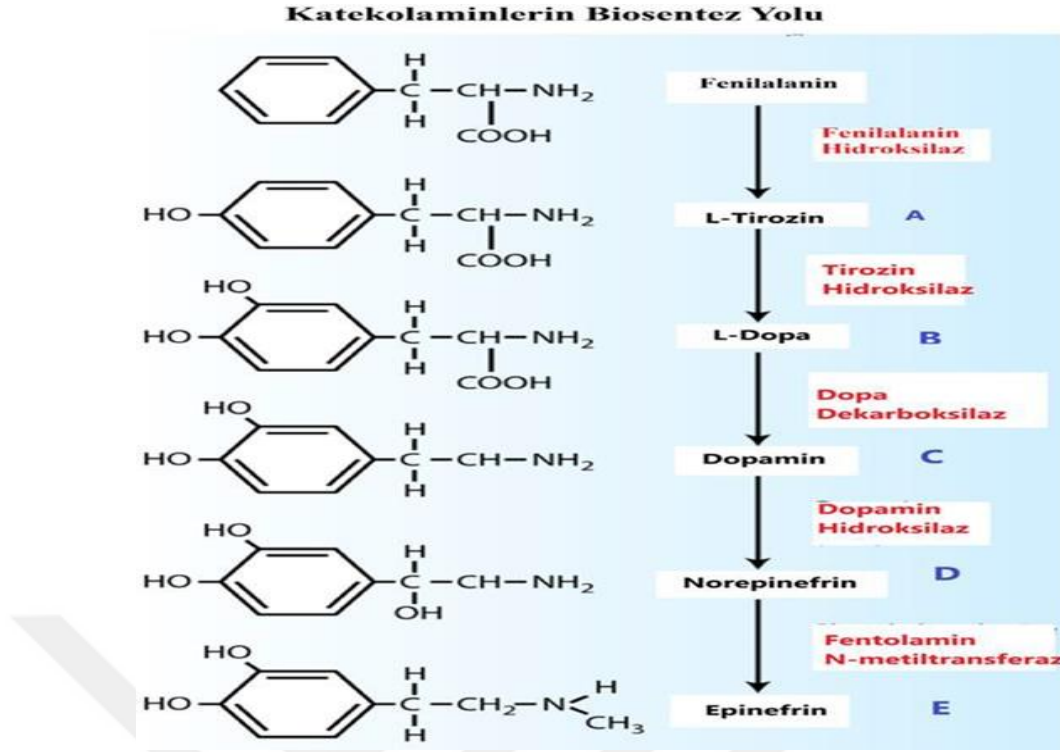
Böbreklerde, merkezi DA sistemlerinden bağımsız gibi görünen bir dopaminerjik sistem vardır. Böbreklerdeki sentezi, özellikle proksimal tübüllerde ve mezangiyal hücrelerde gerçekleşir. Lokal olarak üretilir ve böbrek fonksiyonlarını düzenlemek için kullanılır (Wang vd., 1997).

Dopaminerjik sistemdeki bozuklukların şizofreni, Parkinson, hipertansiyon gibi birçok hastalıkla bağlantısı vardır (Rubí ve Maechler, 2010; Cuevas vd., 2013). Yapılan çalışmalar, dopaminerjik sistemin fizyolojik yaşlanma sürecinde önemli değişikliklere uğradığını ortaya koymaktadır. Bu değişimler özellikle dopamin reseptörlerinin (DR) -başta DR2 alt tipleri olmak üzere- ve dopamin taşıyıcısının (DAT) ekspresyonundaki azalma ile karakterizedir. Söz konusu moleküler değişikliklerin, beyin yaşlanması ve Alzheimer hastalığı patogenezi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Volkow vd., 1994; Bäckman vd., 2010; Trillo vd., 2013).

1.1.1 Dopamin'in Kimyasal Yapısı

Kimyasal formülü $C_8H_{11}NO_2$ olan DA, bir fenol halkası ve bir etanolamin grubu içerir. Bu yapısı, onu hem bir katekol hem de bir amin yapar. Fenol grubu; DA'in yapısında bulunan hidrojen bağları, su ile etkileşimde bulunmasına yardımcı olur. Amin grubu ise nörotransmit olarak görev yapmasına ve sinapslarda etkili olmasına olanak tanır (Medicine, 16.09.2004)

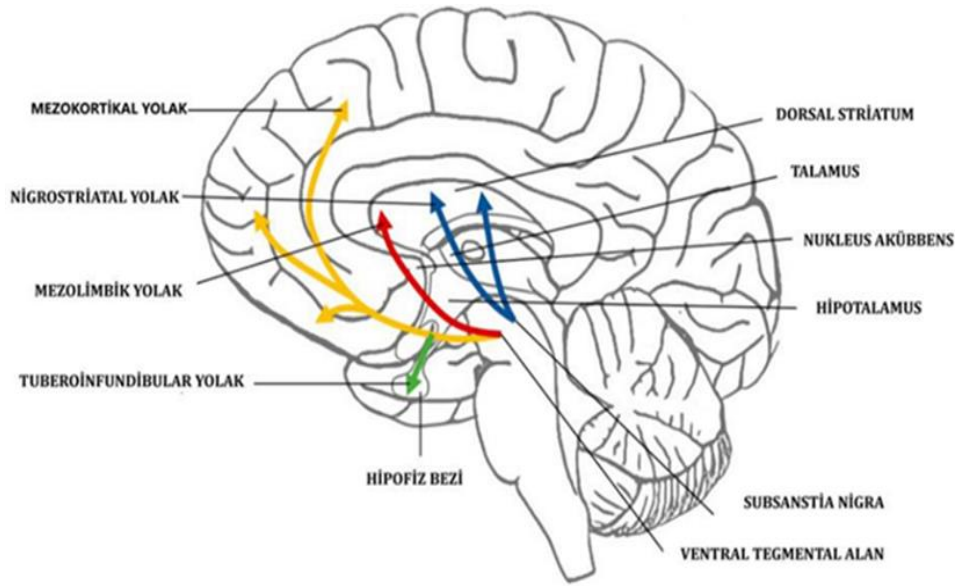
DA beyin, böbrek ve birçok organda, tirozin aminoasidinden sentezlenen L-DOPA molekülünden bir adet karboksil grubunun çıkarılmasıyla sentezlenir. DA'in sentezi için bir seri enzimatik reaksiyonun gerçekleşmesi gerekir. Sentez ilk olarak bir esansiyel aminoasit olan tirozinin, tirozin hidroksilaz (TH) enzimi aracılığı ile DOPA'ya dönüşmesiyle başlar. Daha sonra DOPA'dan aromatik aminoasit dekarboksilaz (DOPA-dekarboksilaz) aracılığı ile DA üretilir (Şekil 1.1). DA norepinefrin ve epinefrinin öncüsüdür.



Şekil 1.1: Katekolamin biyosentez yolu. A) Fenilalanin Hidroksilaz enzimi ile fenilalaninden L-Tirozin sentezi B) Tirozinden, TH enzimi ile Dopa'nın sentezi. C) Dopa'dan dekarboksilaz enzimi ile DA'nın sentezi. D) DA'den dopaminhidroksilaz enzimi ile norepinefrin'in sentezi. E) Fentolamin N-metiltransferenaz enzimi ile epinefrin sentezi (Végh vd., 2016)

1.1.2 Santral Sinir Sistemindeki Dopaminerjik Yolaklar

Merkezi sinir sisteminde dopaminerjik yollar, genellikle dört ana yolakla temsil edilir. Bunlar nigrostriyatal, mezolimbik, mezokortikal ve tuberoinfundibular yolaklardır. Dopaminerjik sistemin yolakları, Şekil 1.2'de şematize edilmiş ve aşağıda özetlenmiştir.



Şekil 1.2: Beyindeki dört ana dopaminerjik yol. Nigrostriatal, mezolimbik, mezokortikal ve tuberoinfundibular yollar (Végh vd., 2016).

Nigrostriatal yolak; anlama, alışma, duysal-motor koordinasyon ve hareketlerin başlatılması, nigrostriatal yolaktaki dopamin metabolizması ile ilişkilidir. Bu yolak, substantia nigradan başlayarak ve dorsal striatumda sonlanır (Meisenzahl vd., 2007).

Mezolimbik yolak; VTA ve ventral striatum, hipokampus ve amigdala arasındaki bölümdür. Daha çok haz duyguları, ödül ve istek ile ilişkilendirilir. Buradan kaynaklanan farkındalık, duygusal tepkilere kaynaklık eder (Meisenzahl vd., 2007).

Mezokortikal yolak; VTA'dan orijinlenir ve prefrontal, dorsolateral prefrontal, temporal, parietal ve anterior singulata kadar devam eder. Mezokortikal yolak özellikle çalışma belleği gibi bilişsel işlevlerde devreye girmektedir (Meisenzahl vd., 2007).

Tuberoinfundibular yolak; meziobazal hipotalamusun ('tuberal bölge' diye adlandırılır) arkuat çekirdeğinden median eminense ('tuberoinfundibular bölge') uzanan dopaminerjik nöron topluluğunu temsil etmektedir. Bu bölgeden salınan dopamin, hipofiz bezinin ön bölgesinden prolaktin salınımını düzenler (Meisenzahl vd., 2007).

1.1.3 Dopamin Reseptörleri

DA, kendi başına bir inhibitör ya da stimülatör değildir. Biyokimyasal ve farmakolojik özelliklerine göre DR1 ve DR2 benzeri olmak üzere, iki alt aileye ayrılır, spesifik membran reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir (Stoof ve Kebabian, 1984; Gingrich ve Caron, 1993; Vallone vd., 2000). DR1 benzeri ailesi DR1 ve DR5'i içerirken, DR2 benzeri ailesi DR2, DR3 ve DR4'ü içerir (Sealfon ve Olanow, 2000). İki DR alt ailesi de adenilat siklaza farklı şekilde bağlanır (Kebabian ve Calne, 1979). Bu sayede adenilat siklaz ve cAMP'yi modüle eder. DR1 ailesi (DR1 ve DR5) genellikle uyarıcı etki gösterirken, DR2 ailesi (DR2, DR3 ve DR4) inhibitör etki sağlar. Böylece farklı fizyolojik ve moleküler yanıtlar oluşur (Civelli vd., 1993; Latif vd., 2021; Speranza vd., 2021).

Merkezi sinir sisteminde DR'ler yaygın olarak ifade edilir. Bu reseptörler nöroendokrin fonksiyonların kontrolünde önemli rol oynarlar. DR1 beyin korteksi, striatum ve bazı limbik alanlarda bulunur. DR2 striatum, limbik sistem ve hipotalamus, DR3 limbik sistem, özellikle VTA ve nükleus accumbens, DR4 prefrontal korteks ve limbik sistem, DR5 ise hipokampus, striatum ve frontal kortekste yoğunlaşmıştır (Seamans ve Yang, 2004; Santana vd., 2009). Davranışsal işlev, bölgesel beyin ifadesi, seçici antagonistler, seçici agonistler ve çeşitli dopamin reseptör tiplerinin etki mekanizması (Tablo 1)'de özetlenmiştir.

DA'nın etkisi periferde de hücre tipine ve taşıdığı reseptör türüne bağlıdır. DR'leri böbrek, damar sistemi ve hipofizde daha belirgin olarak bulunur ve burada esas olarak sodyum homeostazını, damar tonusunu ve hormon salgılanmasını etkiler (Missale vd., 1998; Seamans ve Yang, 2004).

Tablo 1.1: Farklı dopamin reseptörlerinin perspektifi ve bilgisi (Mishra vd., 2018).

Reseptörler	Bölge	Tip	Mekanizma	Fonksiyon	Seçici agonist	Seçici Antagonist
D1	Koku soğanı Nukleus akumbens Striatum, Amigdal a Hipokampus, Frontal korteks, Substantia nigra, Hipotalamus	Gs-bağlantılı	Aktifleştirilmiş adenilat siklaz aracılığıyla geliştirilmiş hücre içi CAMP	Dikkat, Öğrenme, Hareket Uyku, dürtü kontrolü, böbrek fonksiyonlarının düzenlenmesi	SKF-38393 SKF-81297 Fenoldopam (SKF- 82526)	SCH-23390, SCH-39166, SKF-83566
D5	Hipotalamus, Substantia nigra, korteks	Gs-bağlantılı	Adenilat siklaz	Öğrenme, Biliş, Karar verme, Renin salgılama		
D2	VTa, Koku Soğanı, Striatum, Korteks	Gi-bağlantılı	Adenilat siklazı aktive ederek hücre içi CAMP seviyesinin artması	Üreme davranışı, Hareket, Uyku, Dikkat	Bromokriptin Pergolid Kabergolin Ropinirol	Haloperidol, Rakloprid, Sülpirid, Spiperon, Risperidon, L-741.626
D3	Korteks, Calleja adaları, Striatum	Gi-bağlantılı		Hareket, Yiyecek alımının düzenlenmesi, Dürtü kontrolü, Biliş	7-OH- DPAT Pramipeksol Rotigotin PD-128907	Nafadotrid GR-103691 GR-218231 SB-277011A NGB-2904 PG-01037 ABT-12
D4	Hipokampus, Amigdala, Frontal korteks, Nukleus akumbens	l-Gi- bağlantılı		Dikkat, Dürtü kontrolü, Üreme davranışı	A-412997 ABT-670 PD-168077	A-381393 FAUC213, L-745870 L-750667

1.1.4 Dopamin Reseptör Antagonistleri

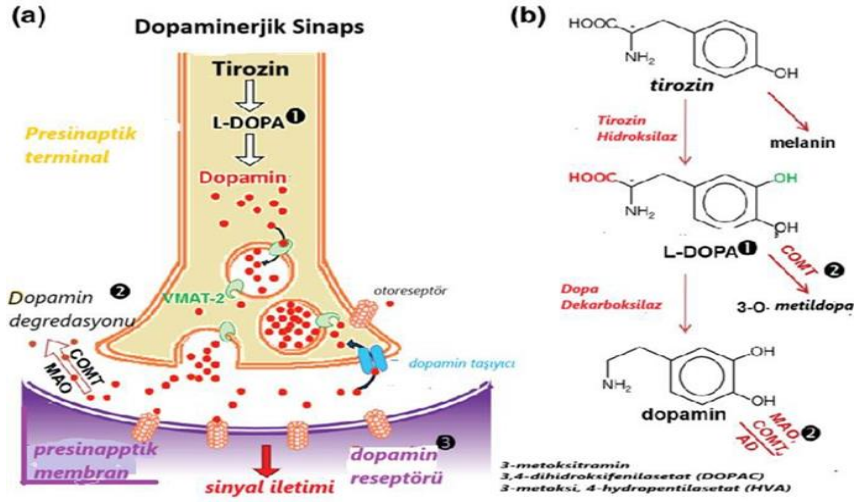
DR antagonistleri, DA reseptörlerini bloklarak DA etkilerini kısıtlayan ilaçlardır. Bu amaçla etki ettiği reseptöre göre isimlendirilir (Kim vd., 2006; Wulff vd., 2015). Dopamin, vücutta pek çok fizyolojik süreçte rol oynadığından, DR antagonistleri farklı klinik endikasyonlarda kullanılır. Örneğin, birçok antipsikotik ajan DR antagonisti özelliği taşır ve bu nedenle şizofreni, bipolar bozukluk ve uyarıcı kaynaklı psikozun tedavisinde tercih edilir. (Ashok vd., 2017). Bunun yanı sıra, bazı DR antagonistleri ise mide bulantısı ve kusmayı tedavi etmek için kullanılan antiemetiklerdir (Smith vd., 2012). Görüldüğü üzere, dopamin

reseptörlerinin blokajı, birbiriyle ilişkisiz gibi görünen çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçler üzerinde farklı etkiler oluşturmaktadır.

Birçok DR antagonisti ticari olarak üretilmektedir ve bunların bir kısmı klinikte, bir kısmı da laboratuvar çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu antagonistlerden Halobenzazepin olarak da bilinen SCH-23390 (SCH), DR1 ve DR5 alt tipleri için sırasıyla 0,2 ve 0,3 nM'lik bir Ki değerine sahip, oldukça güçlü ve seçici bir DR1 antagonistidir (Chu vd., 2008). Daha çok deneysel amaçlı kullanılır. Klinik kullanımı kısıtlıdır. L-741,626 (L741) özellikle DR2 aracılı yanıtları, yakından ilişkili DR3 alt tipi tarafından üretilen yanıtlardan ayırt etmek amacıyla laboratuvar çalışmalarında kullanılır (Bourne, 2001; Vangveravong vd., 2010; Wulff vd., 2015).

1.1.5 Sinir İletiminde Dopamin

Sinir iletiminde, dopaminerjik nöronların presinaptik ucunda, tirozin L-dopa ya, L-dopa ise DA'e dönüştürülüp veziküllere aktarılır. Veziküllerden salınan DA, postsinaptik membrandaki DR'lerine bağlanır ve sinyal iletimi gerçekleşir. Sonrasında ya DA taşıyıcıları aracılığı ile presinaptik uca taşınarak veziküllere depolanıp tekrar kullanılır ya da monoamin oksidaz (MAO), katekol- O -metil transferaz (COMT) ve aldehit dehidrogenaz (AD) enzimlerinin etkisiyle katabolize edilir (Jones vd., 2014). Dopaminerjik sinaps ve DA metabolizması Şekil 1.3 te özetlenmiştir.



Şekil 1.3: Dopaminerjik sinaps ve DA metabolizması. (a,b) Dopaminerjik nöronların presinaptik terminalinde, tirozin TH'nin etkisiyle l-DOPA'ya dönüştürülür. l-DOPA daha sonra DOPA-hidroksilaz'ın etkisiyle nörotransmitter DA'e dönüştürülür. (b) DA, veziküler monoamin taşıyıcı 2 (VMAT-2) tarafından veziküller içinde aktarılır. DA veziküllerinin ekzositozu sonrasında, DA postsinaptik membrandaki DR'ine bağlanır ve postsinaptik nöronda sinyalin iletilmesine yol açar. (a,b) DA daha sonra DA taşıyıcısı aracılığıyla geri alımla geri dönüştürülür veya MAO, COMT ve AD enzimlerinin etkisiyle katabolize edilir (Jones vd., 2014).

1.1.6 Dopaminin Diğer Fizyolojik ve Davranışsal Etkileri

DA'nın sinir iletimi üzerine etkilerine ek olarak aşağıda belirtilen merkezi ve periferik etkilerle sahip olduğu bilinmektedir.

a) Motor Kontrol: DA, motor hareketlerin koordinasyonu ve düzenlenmesinde kritik bir rol oynar. Nigrostriyatal yolaktaki dopaminerjik hücrelerdeki nörodejeneratif değişiklikler ve düşük DA seviyesi, Parkinson hastalığının en önemli sebebi olduğu bildirilmektedir (Speranza vd., 2021; Verma vd., 2023).

b) Ödül ve Motivasyon: DA salınımı, ödüllendirici deneyimlerin ardından artarak öğrenme motivasyonu oluşturur. Bu durum alışkanlık oluşturma sürecinde önemli roller oynar (Björklund ve Dunnett, 2007; Bromberg-Martin vd., 2010).

c) Duygusal Düzenleme: DA, ruh hali ve duygusal durum üzerinde etkili olabilir. Anhedoni (zevk almama) majör depresif bozukluğun temel bir özelliğidir ve düşük DA seviyeleri ile ilişkilendirilirken, yüksek seviyeler aşırı mutluluk veya manik durumlarla ilişkilendirilebilir (Belujon ve Grace, 2017). Dopaminerjik aktivitedeki artış ve şizofreni arasında belirgin bir ilişki vardır. Yüksek DA/norepinefrin oranı şizofreni için risk faktörü kabul edilir (Cubells vd., 1998).

d) Kognitif (Bilişsel) Fonksiyonlar: Mezokortikal yolak, dikkat, bellek ve karar verme gibi bilişsel süreçlerde önemlidir. Fiziksel çabanın bir maliyeti vardır. Sonucunda değerli ödüllere ulaşmak bile olsa bazen zorlu fiziksel aktivitelerden kaçınma durumu söz konusudur. Benzer bir durum düşünme için de geçerlidir. Bir hipotez, bilişsel çaba kaçınmasının, çalışma belleğinin tahsisıyla ortaya çıkan fırsat maliyetlerini en aza indirmeyi amaçladığı yönündedir (Kurzban vd., 2013). Bu doğruysa, bu yalnızca çalışma belleğinin fırsatçı bir şekilde tahsis edildiğini değil, aynı zamanda tahsis politikalarının henüz bilinmeyen maliyet ve teşvik fonksiyonlarına duyarlı, karmaşık bir maliyet-fayda karar vermeyi gerektirdiğini de gösterir. Prefrontal korteksin farklı alt bölgelerindeki DA, beklemenin avantajı veya çabalama durumunda kâr zarar durumunu değerlendiren karar vermeye aracılık eder. Medial prefrontal kortekste D1, D2 ve D4 reseptörlerinin, hayvanların olumsuz uyaranlardan kaçınmak için davranış yönünü önyargılı hale getirmesi gerektiğinde, şartlandırılmış cezalandırma prosedürüyle değerlendirilen karar almaya katkıda bulunduğunu bildirilmiştir (Floresco ve Magyar, 2006).

e) Sindirim Sistemi: DA, gastrointestinal sindirim enzimlerinin salınımını etkiler, ekzokrin salgıları uyarır, bağırsak hareketliliğini inhibe eder, sodyum emilimini ve mukozal kan akışını düzenler ve gastroduodenal ülser hastalığına karşı koruyucudur (Flemström vd., 1993; Glavin ve Hall, 1995).

f) Hormon Salınımı: DA'nın hipofiz bezi hormonlarına etkisi hala tartışılrsa da prolaktin, büyüme hormonu, tirotropin salgılatıcı hormon, tiroit stimüle edici hormon seviyelerini modüle edebileceği bildirilmektedir. Altı sağlıklı erkek denek üzerinde yapılan bir çalışmada, DA infüzyonunun, GH salınımında önemli bir artış, PRL konsantrasyonunda düşüş ve hem bazal hem de TRH aracılı TSH salınımında önemli bir düşüş kaydedildiği gösterilmiştir (LEEBAW vd., 1978; Ben-Jonathan, 1985).

1.2 Meme Kanseri

Meme kanseri, yapılan birçok çalışma ve geliştirilen tedavi yöntemlerine rağmen, dünya genelinde kadınlarda kansere bağlı ölümlerin başlıca nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir. Onkolojik hastalar arasında meme kanseri tanısı alanlar, tüm hastaların yaklaşık %36'sını oluşturur. 2018 yılında dünya genelinde tahmini olarak 2 milyon kişiye meme kanseri tanısı konuldu (Ashok vd., 2017; Nardin vd., 2020). 2022 yılında ise bu sayının 2.3 milyona ulaştığı ve tüm kanser vakalarının %11,6'sını oluşturarak ikinci sırada yer aldığı bildirildi (WHO, 2022). Meme kanseri erkeklerde ise oldukça nadir görülmekte olup, görülme sıklığı yaklaşık %1'dir (Society, 2008). Türkiye'de 2018 yılı verilerine göre, kadınlarda meme kanseri görülme sıklığı yüz binde 48,6'dır (Türkyılmaz vd., 2022).

Meme kanserinin oluşumunda edinilmiş somatik mutasyonlar olguların çoğunu kapsamaktadır. Kalıtsal faktörler tüm vakaların %5-10'u ile ilişkilendirilmektedir (Yang ve Lippman, 1999). Kalıtsal vakaların büyük çoğunluğu BRC1 ve BRC2 genlerindeki mutasyondan kaynaklanmaktadır. Yapılan çalışmalar Amerika ve Avrupa'da, kalıtsal vakaların çoğunluğunu, bu iki gendeki mutasyondan kaynaklandığını göstermektedir (Rebbeck vd., 1996).

Üreme faktörlerinin meme kanseri riski üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu iyi bilinmektedir. İlk tam dönem doğumun erken yaşta gerçekleşmesi, geç başlangıçlı meme kanserlerine karşı koruyucu bir etki göstermekle birlikte, ilk gebelik de dâhil olmak üzere her gebelik, erken başlangıçlı meme kanseri riskini artırmaktadır (Kobayashi vd., 2012). Yaş, cinsiyet, sigara kullanımı ve oral kontraseptif kullanımı, meme kanseri gelişimindeki diğer önemli risk faktörleridir (Kotsopoulos vd., 2014; Catsburg vd., 2015; LaBarge vd., 2016).

Gece ve gündüz ışığa maruz kalma süresinin artması, melatonin salgılanma süresini ve miktarını azaltmakta; bu durumun da meme kanseri riskini artırdığı düşünülmektedir. Melatoninin meme kanserine karşı koruyucu etkisini destekleyen bir diğer bulgu ise, görme engelli kadınlarda ışığa duyarlılığın olmaması ve kan melatonin düzeylerinde belirgin bir değişim gözlenmemesidir. Bu nedenle, görme engelli kadınlarda meme kanseri riskinin, normal popülasyona kıyasla %20-50 daha düşük olduğu bildirilmiştir (Hamolsky, 2014; Kanan, 2018; Akyolcu vd., 2019).

1.2.1 Meme Kanseri Tipleri

Meme kanserinin bugüne kadar lüminal A, lüminal B, İnsan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü 2 (HER2) tipi ve Bazal benzeri üçlü negatif meme kanseri (TNBC) tipi olmak üzere dört ana tipi tanımlandı. Bu alt tipler prognozları ve tedaviye olan yanıtları açısından farklılıklar gösterir (Perou vd., 1999; Brenton vd., 2005). Temel olarak meme kanseri alt tipleri aşağıda gruplandırılmıştır.

a) Lüminal A tipi hücreler, östrojen ve progesteron reseptörü ekspresyonunun pozitif olması ve düşük proliferasyon ile karakterizedir. Meme kanseri tipleri içinde daha iyi bir prognoza sahiptir (Goldhirsch vd., 2013; Yersal ve Barutca, 2014).

b) Luminal B tipi hücreler Luminal A dan farklı olarak HER2 ekspresyonunu gösterir ve yüksek proliferasyon ve daha kötü bir prognoz ile karakterize edilir (Yersal ve Barutca, 2014). Luminal B alt tip tanımı, düşük prolaktin reseptörlerine, yüksek proliferasyona, yüksek tümör derecesine ve hormon tedavisine verilen zayıf yanıtı sahip östrojen reseptör + tümörler için alt tip olarak kabul edilebilir. Östrojen reseptörlerini ifade etmelerine rağmen, lüminal B kanserleri östrojenle düzenlenen genlere karşılık gelen bir gen ifadesi göstermez ve bu nedenle büyüme için alternatif yollar bulur. Moleküler düzeyde, lüminal B kanserleri, gen ekspresyonu, gen kopyası, somatik mutasyon ve DNA metilasyonu düzeylerinde lüminal A kanserlerinden önemli ölçüde farklı görünmektedir. Luminal B kanserleri ayrıca lüminal A kanserlerinden genetik ve genomik olarak farklıdır. Klinik ortamda, lüminal B tipik olarak hormona duyarlı hastalık olarak kabul edilirken, tatmin edici tedaviler için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Creighton, 2012).

c) HER2 tipi meme kanseri hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını teşvik eder ve ilk olarak 1987’de Slamon ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (Slamon vd., 1987). Meme kanserlerinin yaklaşık %15-20’sinde HER2 aşırı ekspresyonu görülmektedir. Bu durum meme kanserinin agresifliğini arttırmaktadır ve buna bağlı olarak HER2 hedefli tedavileri (örneğin trastuzumab, pertuzumab, lapatinib, trastuzumab- emtansin/T-DM1) öne çıkarmaktadır (Geyer vd., 2006; Baselga vd., 2012; Baez-Vallecillo vd., 2019).

d) TNBC tipi, Östrojen ve progesteron reseptör ekspresyonunun eksikliği ve insan epidermal HER2 proteinlerinin veya HER2 gen kopyalarının aşırı

ekspresyonunun/amplifikasyonunun eksikliği ile klinik olarak tanımlanır. Yeni teşhis edilen meme kanseri vakalarının %15-25'ini oluşturur (Sharma vd., 2013). Yaygın olarak agresif klinik seyir ve hedefli tedavi seçeneğinin kısıtlı olması düşük hasta sağ kalımına neden olur ve bu durum bu alt tipi tedavisi en zor meme kanseri yapar. TNBC, tüm meme kanserleri arasında daha düşük orana sahip olmasına rağmen, meme kanseri ölümlerinin büyük bir kısmından sorumludur. Hindistan'da TNBC prevalansı, Batılı popülasyonlara kıyasla önemli ölçüde daha yüksektir (Akhtar vd., 2015; Sandhu vd., 2016). Bu durumun başlıca sebebi yaşam tarzı, yoksunluk durumu, obezite, aile geçmişi, yüksek mitotik indeksler ve BRCA1 mutasyonları gibi canlı risk faktörleriyle ilişkilidir (Thakur vd., 2018).

1.2.2 Meme Kanseri Tedavi

Meme kanserinin tedavisi menopoz durumu, kanserin evresi, tümör boyutu, lenf nodu tutulumu, metastaz yapıp yapmaması ve moleküler tipine göre lumpektomi, mastektomi, radyasyon, hormon terapi, kemoterapi ve/veya kombinasyonları ile yürütülür (Hortobagyi vd., 2017; Trayes ve Cokenakes, 2021). Amerika'da, meme kanserinin erken teşhisi sayesinde, 5 yıllık sağ kalım oranı, %80'in üzerindedir (DeSantis vd., 2016). Luminol A ve B tipi, hormon pozitif meme kanseri türlerinde hormon terapisi en sık kullanılan yaklaşımdır (Drăgănescu ve Carmocan, 2017). Menopoz öncesi ve menopoz sonrası etkin olan tek adjuvan hormonal tedavi Tamoksifen'dir ve östrojen blokeri olarak işlev görür. Ayrıca ovaryumlardan hormon inhibisyonunu sağlamak için letrozol, anastrozol ve eksemestan gibi ilaçlarda kullanılır (Reinert ve Barrios, 2015). HER2 tipi meme kanseri hastaları için en sık kullanılan yaklaşım, anti-HER2 monoklonal antikorlar ile kemoterapinin kombinasyonudur (Wuerstlein ve Harbeck, 2017). TNBC'de hormon reseptörleri olmadığından bu hastaların endokrin veya anti-HER2 ajanları gibi şu anda uygulanabilir hedefli tedaviden faydalanmaları olası değildir. Bu nedenle, bu hastalar için mevcut tek sistemik tedavi seçeneği standart sitotoksik ajanlarla kemoterapidir (Rouzier vd., 2005). Yapılan çalışmalarda TNBC'nin antrasiklin bazlı neoadjuvan kemoterapiye kemosensitivite gösterdiği bildirilmiştir (Carey vd., 2007). Uygulanmadaki tedavilerde belirli bir noktaya gelinmiş olursa da seçici olmayan doza bağlı sitotoksikite ve hücrelerin kanser ilaçlarına karşı direnç göstermesi, kısıtlayıcı olmaya devam etmektedir.

1.3 Dopamin ve Meme kanseri

DA'nın insan metabolizmasındaki yaygın etkisi, özellikle kanser hücrelerinin dopamin reseptör ekspresyonundaki farklılıklar keşfedilmesi, daha çok araştırmacının bu alana yönelmesine sebep oldu (Ben-Jonathan vd., 2022; Grant vd., 2022).

Yapılan çalışmalar DA'nın anjiyogenezi inhibe edebileceğini ve buradaki kilit rolün dopamin reseptör tipine bağlı olduğunu bildirmektedir (Avşar, 2020). Başka bir çalışma DA'nın anjiyogenez için negatif geri besleme döngüsünün bir parçası olduğunu, vasküler endotelial büyüme faktör-2 (VEGFR- 2) reseptörünün fosforilasyonunu inhibe ettiği bildirilmektedir. DA'nın, DR2 aktive etmesi ile endotel hücre proliferasyonu, vaskülerizasyonu ve tümör büyümesini inhibe ettiği bildirildi (Osinga vd., 2017).

DA'nın kanser hücrelerine doğrudan etkilerine ek olarak dolaylı yoldan da etkilerini konu alan bazı çalışmalar mevcuttur. DA kemoterapötiklerle birlikte kullanıldığında belirgin sinerjik etki ve ilaç direncine karşı olumlu etkiler gösterdiği bildirildi. DA epirubisin'e dirençli MCF-7/adr hücrelerinde kemoterapötik bir ilaç olan sunitinib'e yanıtı arttırdı (Wang vd., 2015). Araştırmacılar DA'nın ile sunitinib kombinasyonunun tümör küçülmesine neden olduğunu ve meme kanseri kök hücre benzeri hücrelerin sayısında azalma sağladığını bildirdi (Wang vd., 2015). Diğer bir çalışmada Li vd. (2107) DR2 antagonisti sülpirid'in insan meme kanseri MCF-7/Adr ksenograft modelinde tümör büyümesi üzerine etkilerini belirlemeyi amaçladı. Araştırmacılar tek başına sülpirid uygulamasının tümör büyümesini inhibe etmediğini buna karşın doza bağlı olarak kanser kök benzeri hücrelerin inhibisyonunu sağladığını bildirdi. Çalışma sonuçları Sülpirid ve deksamatazol kombinasyonunun ise sadece deksamatazol uygulamasına kıyasla önemli düzeyde küçülmüş tümör boyutu ile sonuçlandığını göstermektedir (Li vd., 2017).

Bu veriler DA ve reseptörlerinin kanser hücrelerinin gelişimi üzerine önemli etkiler ortaya koyduğunu göstermektedir. DA apoptoza neden olabilir, ancak DA toksisitesi üzerine yapılan diğer çalışmalar, apoptotik olmayan mekanizmaların da DA kaynaklı hücre ölümünde rol oynadığını göstermektedir (Zhang vd., 2017).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Bu bölümde, çalışmamın konusu ile ilgili ulusal ve uluslararası yayınlar taranmış, elde edilen bilgiler araştırma sorusunun, hipotez ve yöntemlerin belirlenmesinde temel bir dayanak oluşturmuştur. Taranan literatür verilerinin bazıları alt başlıklar halinde derlenmiştir.

Meme kanseri, kadınlarda en sık görülen malignite türlerinden biridir. Bu hastalığın tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapötik ajanlardan biri olan 5-FU, 1957 yılında Charles Heidelberger ve çalışma arkadaşları tarafından ilk kez sentezlenmiş ve antikanser etkileri deneysel olarak ortaya konmuştur (Heidelberger vd., 1957). Keşfinden bu yana, bir antimetabolit ajan olarak kullanılan 5-FU, direnç geliştirme potansiyeli ve toksisite profili nedeniyle, daha etkili ve daha az yan etkiye sahip yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (Heller, 1960).

1980'li yıllardan itibaren DA ve DR'lerinin kanser biyolojisi üzerindeki olası rollerine yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bu alandaki ilk çalışmalardan biri olan Wick ve arkadaşlarının (1981) yaptığı çalışmada, dopamin analogu N-asetildopamin'in farelerde deneysel lösemi modeli üzerindeki biyolojik etkileri değerlendirilmiş ve dopaminin farklı türevlerinin kanser biyolojisinde potansiyel işlevsel roller üstlenebileceği öne sürülmüştür (Wick ve Mui, 1981).

Scemama ve arkadaşları (1984) tarafından yapılan çalışmada, HT29 kolorektal kanser hücre hattında dopamin D1 ve D3 reseptörlerinin aşırı ifade edildiği gösterilmiştir. Araştırmacılar, elde ettikleri veriler doğrultusunda, dopamin sinyal iletiminin tümör hücrelerinde metabolik değişikliklere yol açabileceğini ileri sürmüşlerdir.(Scemama vd., 1984)

Takip eden yıllarda yapılan araştırmalar, özellikle dopamin DR2'nin hücre proliferasyonu ve anjiyogenezi düzenleyebileceğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda, Basu ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan önemli bir çalışmada, kötü huylu birçok tümör tarafından yüksek oranda ifade edilen vasküler geçirgenlik faktörü/vasküler endotelial büyüme faktörünün (VPF/VEGF) hem fizyolojik hem de patolojik anjiyogenezin kritik bir düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada, dopaminin toksik olmayan düzeylerde VPF/VEGF'nin vasküler geçirgenliği artırıcı ve anjiyogenik etkilerini güçlü ve seçici biçimde inhibe ettiği bildirilmiştir. Dopaminin bu etkisini, VEGF reseptörü 2'nin (VEGFR-2) endositozunu

indükleyerek gerçekleştirdiği; bu sürecin D2 dopamin reseptörleri aracılığıyla yürütüldüğü ve sonuç olarak VEGF'nin reseptöre bağlanmasını, reseptörün fosforilasyonunu ve aşağı akış sinyal yollarını engellediği ortaya konmuştur (Basu vd., 2001).

2008 yılında Sarkar ve arkadaşları, dopaminin VEGF aracılı anjiyogenezi inhibe etme potansiyelinden yola çıkarak, dopaminin kemoterapi ilaçlarıyla olası sinerjik etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, MCF-7 ve HT29 tümörlü farelerde dopaminin tek başına ve doksorubisin ya da 5-FU ile kombinasyonu değerlendirilmiş; tümör büyümesi, apoptoz, anjiyogenez ve moleküler düzeydeki etkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda dopaminin, yaygın olarak kullanılan antikanser ilaçların etkinliğini anlamlı düzeyde artırdığı ve düşük maliyetli bir ilaç olan dopaminin, meme ve kolon kanseri tedavisinde potansiyel bir antianjiyogenik ajan olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır (Sarkar vd., 2008).

Pornour ve arkadaşları (2015), insan meme kanseri hücre hattı (MCF-7) üzerinde dopamin reseptörlerinin gen ifadesi örüntüsü incelenmiş ve dopamin reseptörlerine özgü agonist (bromokriptin) ile antagonist (remoksiprid) ajanların hücrelere etkileri değerlendirilmiştir. RT-PCR ile dopamin reseptör gen ifadeleri saptanmış; hücreler 48 saat boyunca farklı dozlarda tedavi edilmiştir. Bromokriptin, MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu anlamlı düzeyde baskılamış ve apoptozu indüklemiştir. Buna karşılık, remoksiprid bromokriptinin etkilerini inhibe etmiştir. Bulgular, D2 benzeri reseptörlerin hedef alınmasının meme kanseri tedavisinde potansiyel oluşturabileceğini göstermektedir (Pornour vd., 2015).

Liu ve arkadaşları (2021) DA'i, pankreas kanseri üzerindeki etkileri, tümörle ilişkili makrofajlar (TİM) ile kanser hücreleri arasındaki etkileşimler üzerinden değerlendirilmiştir. Transkriptomik ve proteomik analizler, dopaminin TiM'lerin tümör destekleyici M2 fenotipini baskıladığını ve bu yolla kemoterapötik etkinliği artırdığını göstermiştir. DA'nın, DR4 aracılığıyla cAMP düzeylerini azaltarak PKA/p38 sinyal yolunu inhibe ettiği ve böylece tümörle ilişkili inflamasyonu azalttığı belirlenmiştir. Bulgular, dopaminin TiM'ler üzerinden kemoterapiye sinerjik katkı sağlayabileceğini ortaya koymaktadır (Liu vd., 2021).

3. MATERYAL VE METOT

Yapılan bu çalışma *in vitro* bir çalışmadır ve etik kurul iznine ihtiyaç duymamaktadır. Çalışmanın bütün aşamaları Bartın Üniversitesi Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1 Çalışmada Kullanılan Hücre Serisi ve Kültür Ortamları

Bu çalışmamızda *in vitro* modeller olarak insan meme kanseri epitel hücre serisi (MCF-7) kullanıldı. Besleme medyumunu olarak Tablo 3.1’de belirtilen medyum hazırlandı ve 0.22 µm por çapına sahip vakum filtrasyon sisteminden (Katalog No: 343001; NEST Biotechnology, Çin) süzüldü. Hücre büyüme, pasaj ve diğer deneysel süreçler biyolojik emniyet kabini (Model No: BIF2000; Bilser, Türkiye) içerisinde gerçekleştirildi. Hücreler aseptik şartlarda ve standart koşullarda (37 °C, %5 CO₂) inkübe edildi (Model No: 3131, Thermo Fisher Scientific, ABD).

Tablo 3.1: MCF-7 besleme medyum içeriği

Solüsyon	Miktar (mL)	Ürün Bilgisi
Dulbecco’s Modified Eagle Medium (DMEM) Yüksek Glukoz	439	Katalog No: 41968-029, Gibco, İngiltere
Fetal Sığır Serum (FBS)	50	Katalog No: S181G-500; Serox GmbH, Almanya
100 IU/mL İnsan Rekombinant İnsülini	1	Humulin-R, Lilly, ABD
%1 Esansiyel Olmayan Amino Asit Çözeltisi	5	Katalog No: P08-32100; Pan Biotech GmbH, Almanya
%1 Penisilin-Streptomisin Solüsyonu	5	Katalog No: 03-031-1B; Biological Industries, İsrail

3.2 Hücre Kültürü

Sıvı azot tankından çıkarılan hücre vialleri, 37 °C’de ısıtılmış su banyosunda hızlıca çözüldü ve dış kısmı %70 alkol ile dezenfekte edilerek biyolojik emniyet kabinine alındı. Steril 15 mL’lik falkon tüplerine önceden 37 °C’ye ısıtılmış medyumdan 6 mL bırakıldı ve vial içerisindeki hücre süspansiyonu falkon tüplerine transfer edildi. Tüpler, 1500 rpm’de 8 dakika santrifüje alındı. Üst faz aspire edilerek uzaklaştırıldı ve hücre peletine bir miktar medyum eklenerek hücrelerin ayrılması sağlandı. Hücreler daha sonra 25 cm²’lik kültür flasklarına ekildi ve inkübasyona bırakıldı.

3.2.1 Hücrelerin Alt Kültüre Alınması

%80-90 yoğunluğa ulaşan hücreler pasajlandı. İlk olarak, medyum aspire edilerek uzaklaştırıldı ve flask tabanları 5 mL fosfat tamponu (PBS; 18 Katalog No: L0615-500; Biowest, Fransa) ile yıkandı. 3 mL tripsin-EDTA solüsyonu (Katalog No: 325-043-EL, Wisent Inc., Kanada) eklendi ve inkübatörde 5-7 dakika bekletildi. Böylece hücreler flask tabanından ayrıldı. Sonrasında kullanılan tripsin-EDTA çözeltisi ile aynı miktarda medyum eklendi ve süspansiyon falkon tüpüne alınarak 1500 rpm’de 8 dakika santrifüj edildi. Üst faz aspirasyonla uzaklaştırıldı. 6 mL medyum eklenerek yavaşça pipetlendi ve hücreler medyum içerisinde homojen hale getirildi. Hücre sayımı yapabilmek için bu karışımdan 20 µL alındı ve Eppendorf tüpüne kondu. Aynı miktar tripan mavisi eklenerek pipetaj yapıldı. Hücreler, bir inverted mikroskop (Optec BSD400, Çin) aracılığıyla sayıldı. Daha sonra 1/6 oranında alt kültürler hazırlandı. Flaskların medyumları haftada iki kez değiştirildi.

3.2.2 Hücrelerin Stoklanması

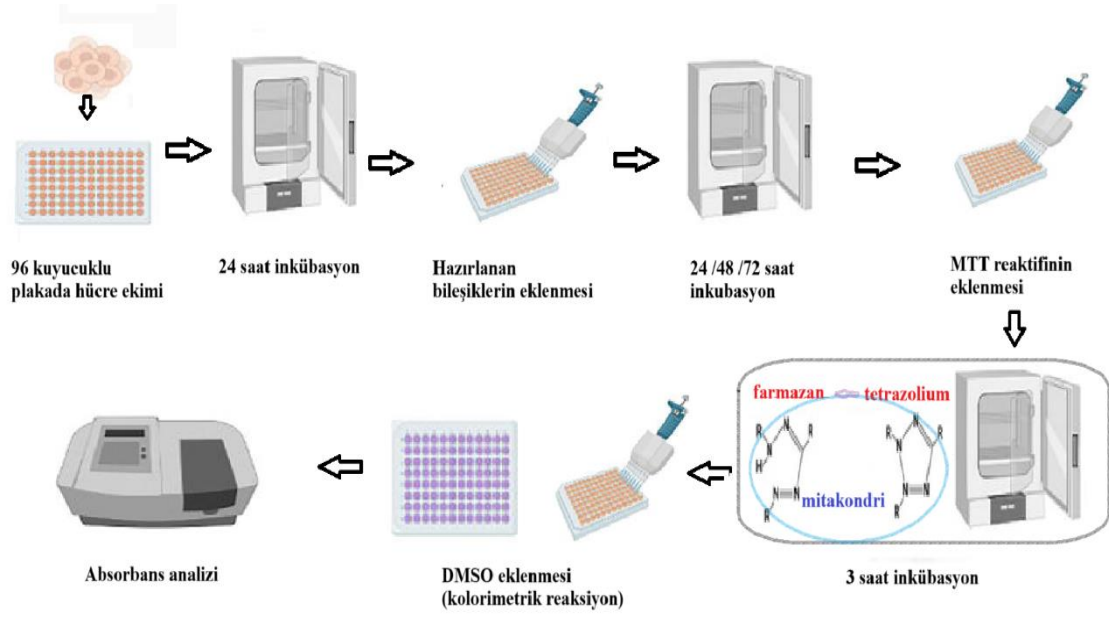
Çalışma sürecinde olası kontaminasyon durumları için kullanılmak üzere kalan hücreler dondurularak muhafaza edildi. Yaklaşık 2×10^6 hücre olacak şekilde hücre peletleri üzerine, dondurma işlemi için hazırlanan medyum (900 µL besleme medyum + 100 µL DMSO) eklendi ve hücre peletleri süspanse edildi. Sonrasında süspansiyon hücre dondurma viallerine (Cryogenic vial) alındı. Tüpler, ilk 24 saat -20 °C’de, ardından -80 °C’de 24 saat bekletildikten sonra sıvı azot tankına alındı.

3.2.3 Bileşiklerin Hazırlanması

Bu çalışmada, DA (katalog no: 21992, Cayman Chemical, ABD), DR1 antagonisti SCH (katalog no: 15631, Cayman Chemical, ABD), DR2 antagonisti L741 (katalog no: 22354, Cayman Chemical, ABD), ve 5-FU (katalog no: F6627, Sigma Aldrich, Almanya)'nın dozları DMSO içinde hazırlandı ve sterilize edildi. Stok çözeltiler hazırlanırken, nihai doza ulaşabilmek için uygulanacak çözücü miktarı 1 µL olacak şekilde ayarlandı (96 kuyucuklu plakalarda her bir kuyucuktaki besiyerinin toplam miktarının %0,5'ine denk gelecek şekilde). Böylelikle çözücünün olası sitotoksik etkisi minimize edildi (Chen ve Thibeault, 2013; Yuan vd., 2014). Çalışmada, her bir bileşiğin 0.01, 0.1, 1, 10, 25, 50, 75 ve 100 µM dozları kullanıldı.

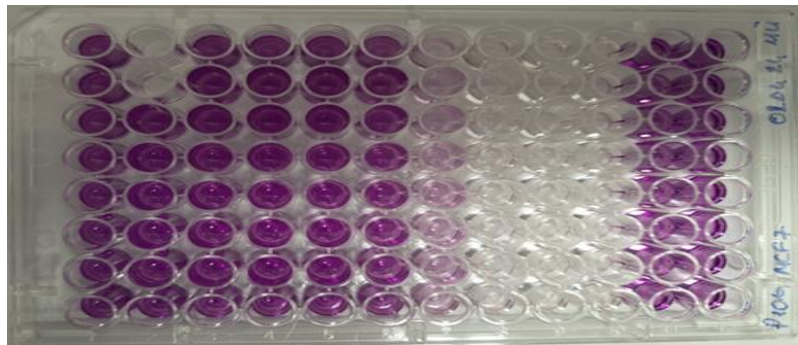
3.3 Sitotoksosite Analizi

Konfluent olan hücreler, tripsin-EDTA solüsyonu kullanılarak toplandı ve santrifüj sonrası %0,4'lük tripan mavisi ile inverted mikroskop altında sayıldı. Hücre canlılık oranının %90 ve üzeri olması durumunda deneysel çalışmalara geçildi. Deneysel çalışmalarda 96 kuyucuklu plaktaki her kuyucuğa yaklaşık 15×10^3 hücre ekildi ve 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda hücreler DA, DR1 antagonisti (SCH), DR2 antagonisti (L741) ve 5-FU'nun belirlenen konsantrasyonlarıyla sırasıyla 24, 48 ve 72 saat boyunca muamele edildi. Bu sürelerin sonunda bileşiklerin hücreler üzerindeki olası sitotoksik etkileri, hücre canlılık düzeylerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan 3-(4,5-Dimetiltiyazol-2-il)-2,5-Difeniltetrazolyum Bromür (MTT) yöntemiyle değerlendirildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: MTT analiz yönteminin grafik gösterimi

Hücrelerin bileşiklerle muamelesi sonrasında her bir kuyucuktaki medyum uzaklaştırıldı ve her kuyucuğa 50 μ L MTT (0,5 mg/mL) çözeltisi ilave edildikten sonra hücreler, CO₂'li inkübatörde 3 saat inkübasyona alındı. İnkübasyon sonunda MTT çözeltisi uzaklaştırılarak her kuyucuğa 100 μ L DMSO eklendi. Hücrelerin optik yoğunlukları, mikroparka okuyucu (Thermo Multiskan GO, ABD) kullanılarak 570 nm dalga boyunda ölçüldü (Mosmann, 1983). Sadece medyum içeren kontrol kuyucuklarının absorbans değerlerinin ortalaması alınarak bu değer %100 canlılık olarak kabul edildi. Deney gruplarındaki canlılık düzeyleri, kontrol grubuna göre oranlanarak yüzde canlılık değerleri hesaplandı. Yapılan deneylere ait örnek bir plaka görüntüsü Şekil 3.2'de sunulmuştur.



Şekil 3.2: MTT analizi sonrası plaka görseli

3.4 DNA Hasar Düzeyinin Belirlenmesi

Tek hücre jel elektroforezi yöntemi (Comet assay), memeli hücrelerindeki DNA hasarını (genotoksisite) belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Olive ve Banáth, 2006). Bu çalışmada kullanılan Alkali Comet Assay tekniği, Singh ve arkadaşları tarafından tanımlanan protokol temel alınarak uygulandı (Singh, 2016).

İlk olarak, %0,65 yüksek erime sıcaklığına sahip agaroz (HMA), fosfat tamponu içerisinde mikrodalga fırında eritilerek hazırlandı ve rodajlı lamalar bu agaroz ile kaplandıktan sonra karanlık ortamda 24 saat boyunca kurutuldu. Ardından 12 kuyucuklu plakalarda kültüre edilen hücreler, test edilecek bileşiklerin tekli ve kombine halleriyle muamele edildi. Uygulanan dozlar MTT analizlerine dayanarak belirlendi.

İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra, yaklaşık 10.000 hücre, 38-40 °C sıcaklıktaki düşük erime sıcaklığına sahip agaroz (LMA) ile karıştırılarak HMA kaplı lamalar üzerine yayıldı ve lamelle kapatıldı. Preparatlar ağarın katılaşması için +4 °C’de ve karanlık ortamda 10-15 dakika bekletildi. Daha sonra lameller sıyrıldı ve lamalar önceden hazırlanmış soğuk lizis solüsyonunda (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris (pH: 10) solüsyonuna %1 Triton X-100 ve %2 DMSO ilave edilerek hazırlanan) 1 saat 4 °C’de bekletildi.

Lamlar lizis işlemi sonrası yatay elektroforez tankı (Cleaver Scientific, İngiltere) içerisine aynı yönde dizilerek üzerlerine soğuk alkali elektroforez tamponu eklendi. Tank, güç kaynağına bağlanarak 25 volt (maksimum 300 mA) akım altında, 20 dakika süreyle elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Lamlar, elektroforez sonrasında nötralizasyon tamponu ile üç kez beşer dakika yıkanarak nötralize edildi. Oda sıcaklığında kurutulan lamaların üzerine etidyum bromür damlatıldı ve boyanma için 20 dakika beklendi. Son olarak fazla boyanın giderilmesi için soğuk deiyonize su ile kısa süreli yıkanan lamlara lamel kapatıldı ve hazırlanan preparatlar floresans mikroskop (Zeiss Axioscope A1, Almanya) ile görüntülendi.

Her bir gruptan rastgele seçilen en az 100 hücre sayıldı; grupların tail intensity (TI), tail length (TL), tail DNA% (TD) ve tail moment (TM) parametreleri belirlendi. Bu parametrelerdeki değişimler, DNA hasarının varlığını ve oranını değerlendirmemize olanak sağladı. Tüm deneysel işlemler karanlık ortamda gerçekleştirildi.

3.5. İstatistiksel Analiz

Nicel veriler ortalama±standart hata, nitel veriler ise sayı (yüzde) ile özetlendi. İncelenen değişkenlerin gruplar arası karşılaştırılmalarında tek yönlü varyans analizi ile yapılabilmesi için, normal dağılıma uygunluk ve varyansların homojenlik kontrolü yapıldı. Bu varsayımların sağlanması durumunda, ilgili değişkenler için grup ortalamaları arası farklılık, tek yönlü varyans analizi (One Way Anova) ve çoklu karşılaştırmalar ise Benferroni testleri ile gerçekleştirildi. Normallik varsayımlarının sağlanmadığı durumlarda ise Kruskal Wallis H testi ve çoklu karşılaştırmalarda ise Dunn testi kullanıldı. İkili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U gerçekleştirildi. $P<0.05$ değeri istatistiksel olarak önemli kabul edildi. Analizlerde GraphPad 8 for Windows paket programı kullanıldı.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Deneysel çalışma sürecinde elde edilen bulgular aşağıda şekil ve tablolar kullanılarak özetlenmiştir.

4.1 Sitotoksisite Analiz Sonuçları

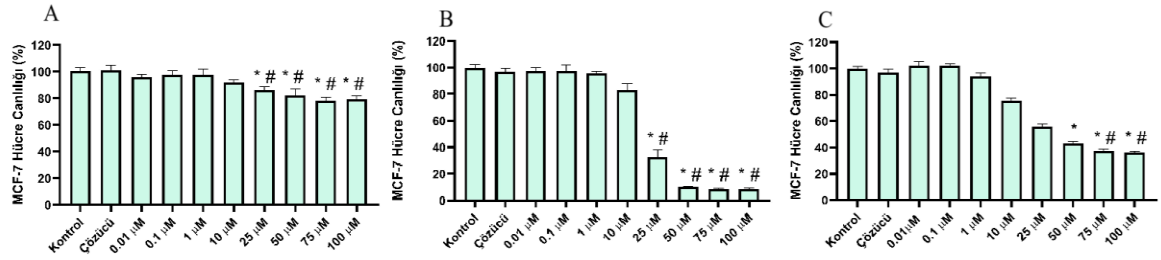
MCF-7 hücre hattında test edilen bileşiklerin sitotoksik etkilerini değerlendirmek için MTT analizi uygulandı. Analiz kapsamında, hücre canlılık düzeyleri belirli dozlar ve zaman aralıklarında ölçüldü. 5-FU, DA, L741 ve SCH bileşiklerinin tek başlarına farklı konsantrasyonlardaki etkileri ile 5-FU'nun DA, L741 ve SCH ile olan kombinasyonlarının hücre canlılığı üzerindeki etkileri, kontrol ve çözücü kontrol gruplarıyla kıyaslanarak değerlendirildi.

4.1.1 Bileşiklerin Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri

Bileşikler, hücrelere farklı konsantrasyonlarda uygulanarak, etkin en düşük doz ve etkisiz en yüksek doz belirlendi. Bu dozlar kombine uygulamalarda, kombinasyonların etkinliğini değerlendirmede kullanıldı.

4.1.1.1 5-Florourasil'in MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

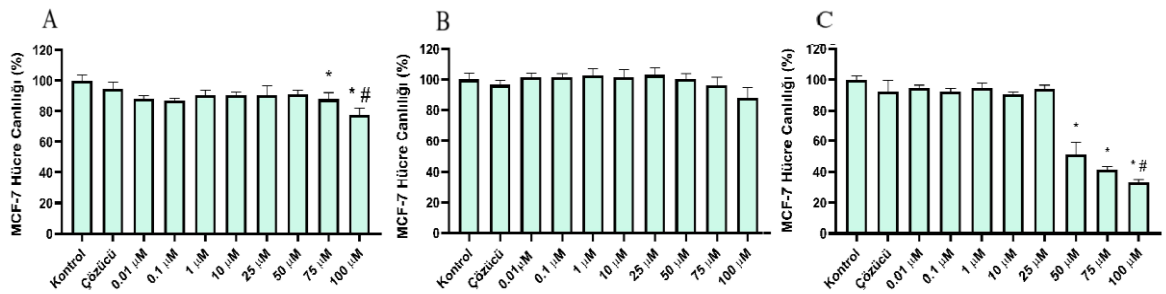
5-FU bileşiğinin MCF-7 hücre hattına uygulanmalarından sonra meydana gelen hücre canlılık düzeyindeki değişimler Şekil 4.1'de özetlendi. Uygulamanın 24 ve 48 saatlik zaman diliminde 25 μ M, 72 saatlik zaman diliminde ise 50 μ M ve üzerindeki konsantrasyonları hem kontrol hem de çözücü gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde sitotoksisite gösterdi ($p < 0.05$). Özellikle 48 saatlik uygulama süresinde bu etkinin daha belirgin olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.1: 5-FU uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%). A) 24 saat, B) 48 saat, C) 72 saat. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre anlamlı fark; # $p < 0.05$ çözücü grubuna göre anlamlı fark.

4.1.1.2 Dopamin'in MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

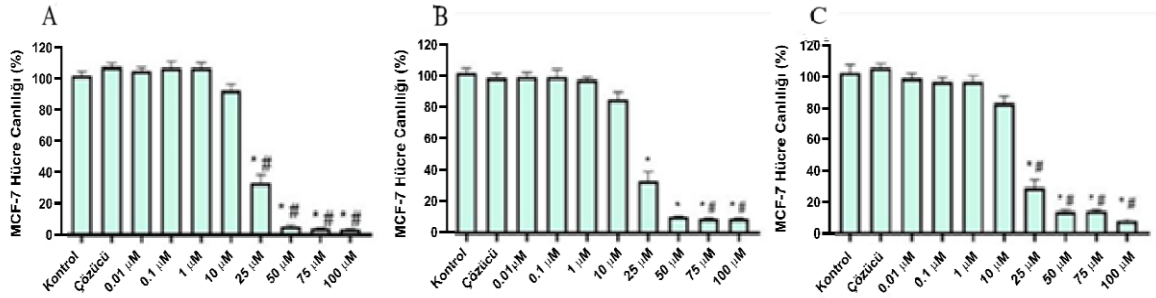
DA bileşiğinin MCF-7 hücre hattına uygulamaları sonrasında hücre canlılık düzeylerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.2'de sunuldu. DA'nın 24 saatlik uygulama sonunda 75 μ M konsantrasyonu kontrol grubuna kıyasla, 75 ile 100 μ M konsantrasyonları da çözücü grubuna kıyasla hücre canlılığını anlamlı bir seviyede azalttı ($p < 0.05$). DA uygulamasından 72 saat sonra, 50 μ M ve üzerindeki dozlar kontrol gruplarına kıyasla canlılığı önemli düzeyde azalttı ($p < 0.05$). Buna karşılık, 48 saatlik uygulamada anlamlı bir değişim gözlenmedi.



Şekil 4.2: DA uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%). A) 24 saat, B) 48 saat, C) 72 saat. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre anlamlı fark; # $p < 0.05$ çözücü grubuna göre anlamlı fark.

4.1.1.3 L-741.626'nın MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

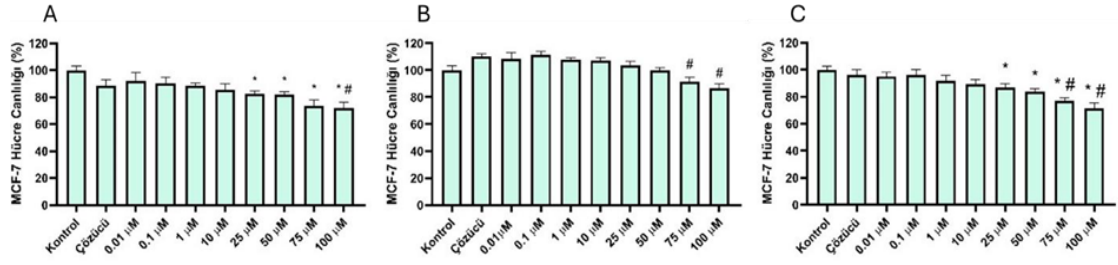
DR2 antagonisti olan L741 bileşiğinin MCF-7 hücre hattına 24, 48 ve 72 saat süreyle uygulanması sonrasında hücre canlılık düzeylerindeki değişim Şekil 4.3'te özetlendi. Buna göre zaman bağımsız olarak her üç uygulama süresinde L741 bileşiği, 25 μ M ve üzerindeki konsantrasyonlarda önemli düzeyde sitotoksik etki ortaya koydu ($p < 0.05$). Özellikle 50 μ M ve üzerindeki dozlarda canlılık düzeyi %10'un altındaydı.



Şekil 4.3: L741 uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%). A) 24 saat, B) 48 saat, C) 72 saat. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre anlamlı fark; # $p < 0.05$ çözücü grubuna göre anlamlı fark.

4.1.1.4 SCH 23390'nın MCF-7 Hücre Canlılığı Üzerine Etkisi

MCF-7 hücre hattına uygulanan SCH bileşiğinin her üç zaman döneminde de etkisi benzer seviyedeydi. SCH uygulaması yüksek dozlarda kısmen hücre canlılığının azalmasına neden oldu. Uygulanan en yüksek dozda (100 μ M) dahi hücre canlılığı yaklaşık %10–15 oranında azalma gösterdi. Kısmen gerçekleşen bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$, Şekil 4.4). Elde edilen bu etki düzeyi DR2 antagonisti olan L741'in aynı zaman dilimlerinde gösterdiği %70–95 oranındaki sitotoksik etkiye kıyasla oldukça sınırlı kaldı. SCH bileşiğinin hücre canlılığını %15–30 arasında azaltması, onun L741'e göre daha düşük sitotoksik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.4: SCH uygulamasından sonra MCF-7 hücre canlılık düzeylerindeki değişim (%). A) 24 saat, B) 48 saat, C) 72 saat. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunuldu. * $p < 0.05$ kontrol grubuna göre anlamlı fark; # $p < 0.05$ çözücü grubuna göre anlamlı fark.

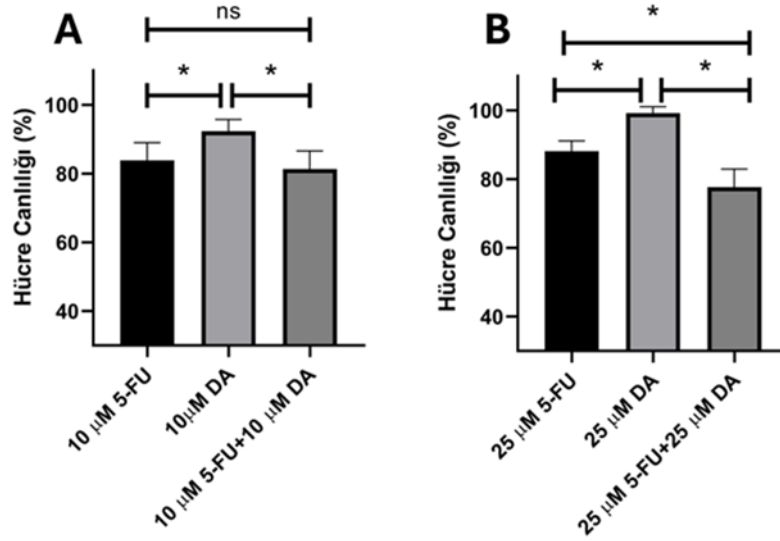
4.1.2 Kombine Uygulamaların Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkisi

MTT sonuçları sonrasında 5-FU uygulamasının 24 saatlik dönemi diğer iki zaman dönemine kıyasla daha düşük düzeyde sitotoksositeye neden oldu. Bu çalışmanın öncelikli amacı 5-FU tedavisinin etkinliğini arttırmada DA ve reseptör antagonistlerinin rolünü araştırmaktır. Bu nedenle 24 saatlik 5-FU'nun nispeten düşük olan bu etkinliğini arttırabilmek amacıyla bu zaman dilimi esas alındı ve kombine uygulamalar 24 saatlik dönemler sonucu ölçüldü.

5-FU'nun etkili en düşük dozu (25 μ M) ve etkili olmayan en yüksek dozu (10 μ M) DA ve reseptör antagonistleri ile kombine uygulandı. DA reseptörler antagonistleri L741 ve SCH 24 saat sonrasında 25 μ M'da etki gösterdi. Bu nedenle iki bileşiğin gösterdiği bu ortak doz esas alınarak 5-FU ile kombine uygulamalar 10 ve 25 μ M dozlarla gerçekleştirildi. Hücre canlılık düzeylerindeki değişimler MTT testi ile analiz edildi. Sonuçlar Şekil 4.5-4.7 de gösterildi.

4.1.2.1 5-Florourasil ve Dopaminin Hücre Canlılığına Etkisi

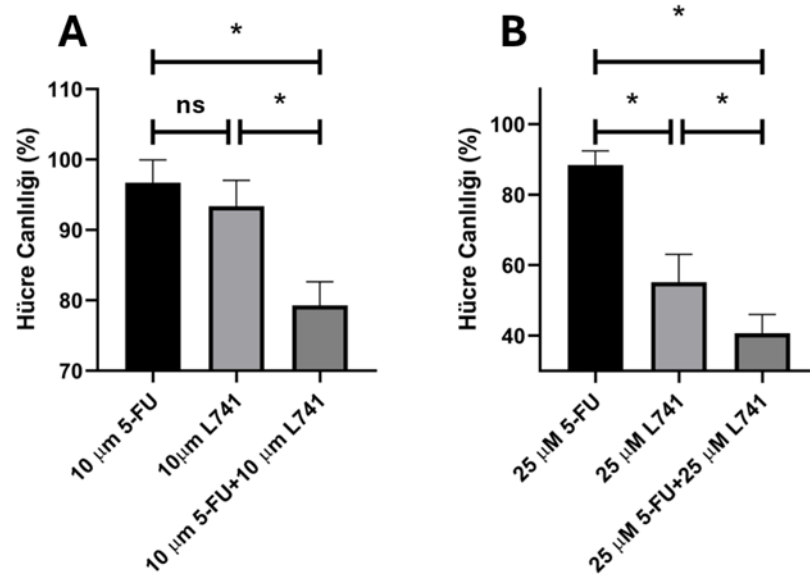
10 μ M 5-FU ve 10 μ M DA'nın birlikte uygulanması, sadece 5-FU uygulanan gruba kıyasla canlılığı önemli düzeyde etkilemedi. Buna karşın 25 μ M 5-FU ve 25 μ M DA'nın kombinasyonu bi bileşiklerin ayrı ayrı uygulamalarına kıyasla önemi düzeyde düşük hücre canlılığına neden oldu (Şekil 4.5; $p < 0.05$). DA'nın ve 5-FU'nun tekli etkilerinin her ikisine kıyasla gerçekleşen bu sitotoksik değer, DA'nın 5-FU ile kombine uygulanabilirliğini göstermesi açısından önemlidir.



Şekil 4.5: 5-FU ve DA kombinasyonunun MCF-7 hücre canlılığı üzerindeki etkileri. A) 10 µM doz uygulaması, B) 25 µM doz uygulaması. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. İkili karşılaştırmalar Mann-Whitney testi ile değerlendirildi. ns: istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur, * $p < 0.05$: iki grup arasında anlamlı fark vardır.

4.1.2.2 5-Florourasil ve L741,626'nin Hücre Canlılığına Etkisi

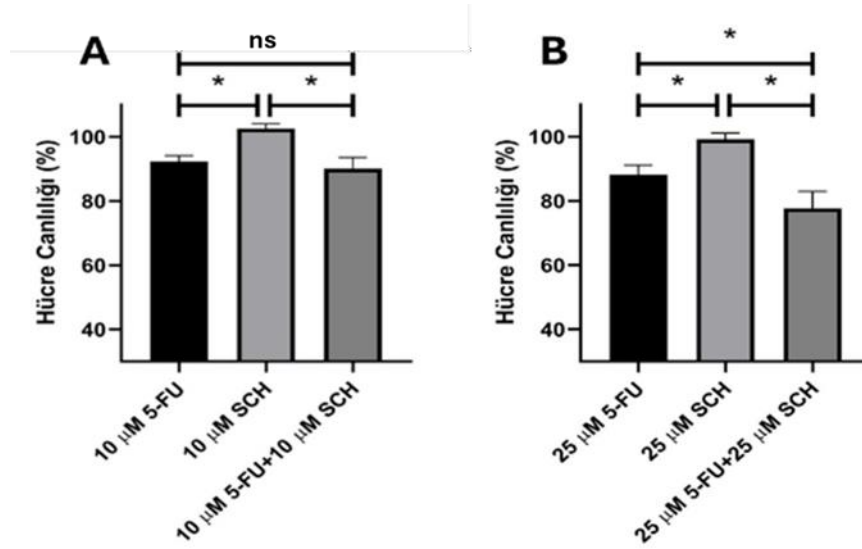
5-FU ve L741 bileşiklerinin birlikte uygulanmasının her iki dozda da bileşiklerin tek başlarına uygulanmasına kıyasla, hücre canlılığını anlamlı düzeyde daha fazla azalttığını gösterdi ($p < 0.05$). Bu durum, kombinasyonun potansiyel sinerjik etki gösterebileceğine işaret etmektedir. Özellikle 10 µM konsantrasyonlarda gerçekleştirilen uygulamaların sonucu bu sitotoksiteyi daha belirgin şekilde ortaya koydu (Şekil 4.6).



Şekil 4.6: 5-FU ve L741 kombinasyonunun MCF-7 hücre canlılığı üzerindeki etkileri. A) 10 µM doz uygulaması, B) 25 µM doz uygulaması. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edilmiştir. İkili karşılaştırmalar Mann-Whitney testi ile değerlendirilmiştir. ns: istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur; *p < 0.05: iki grup arasında anlamlı fark vardır.

4.1.2.3 5-Florourasil ve SCH 22390'ın Hücre Canlılığına Etkisi

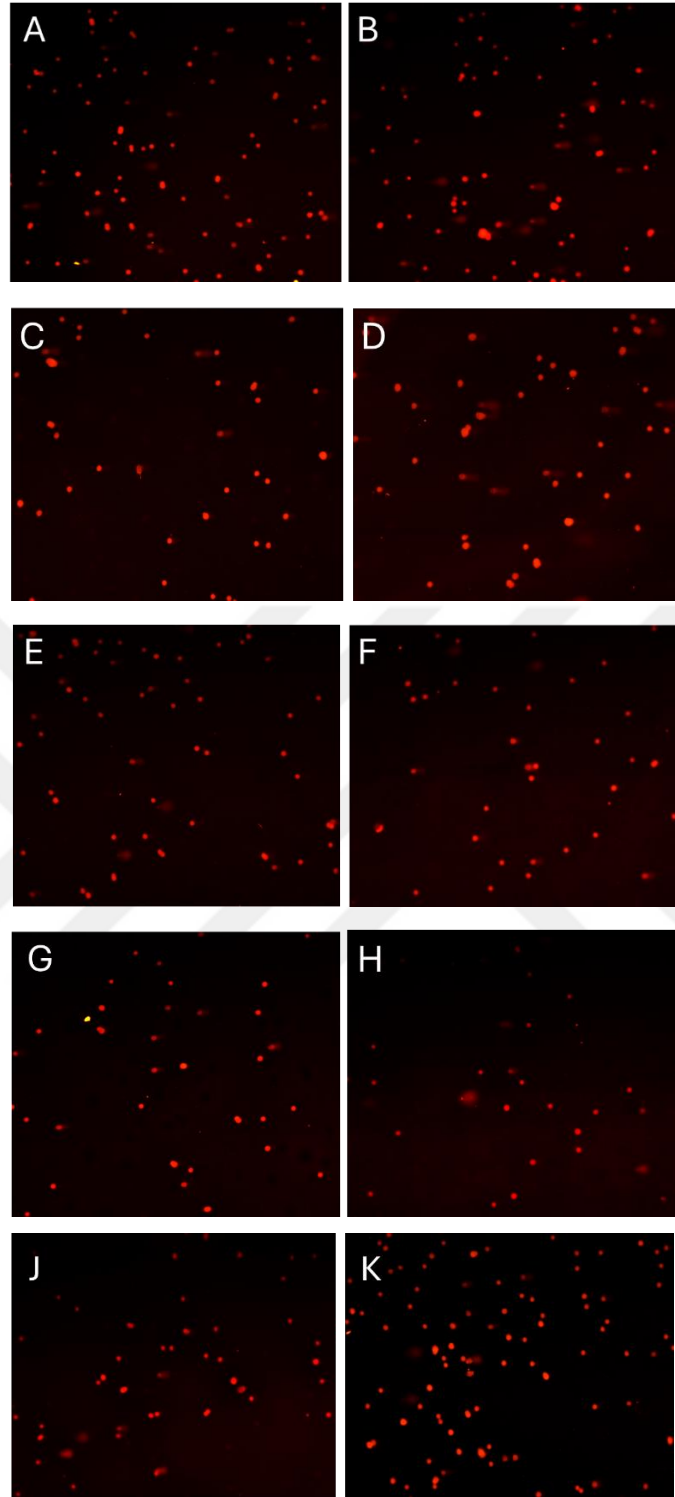
SCH'in 5-FU ile kombine sonuçları Şekil 4.7'de sunuldu. Sonuçlar SCH ve 5-FU'nun 10 µM doz kombinasyonunun anlamlı bir farklılık oluşturmadığını, buna karşın 25 µM doz uygulamasının kombine edilen grupta canlılığı önemli seviyede inhibe ettiğini gösterdi (p<0.05). Bu durum, 5-FU ve SCH kombinasyonunun yüksek dozda daha etkili bir sitotoksik yanıt oluşturduğunu göstermektedir.



Şekil 4.7: 5-FU ve SCH kombinasyonunun MCF-7 hücre canlılığı üzerindeki etkileri. A) 10 µM doz uygulaması, B) 25 µM doz uygulaması. Grup ortalamaları Kruskal-Wallis H testi ile analiz edildi. İkili grup karşılaştırmaları Mann-Whitney testi ile değerlendirilmiştir. **ns**: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. * $p < 0.05$: İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

4.2 COMET Analiz Sonuçları

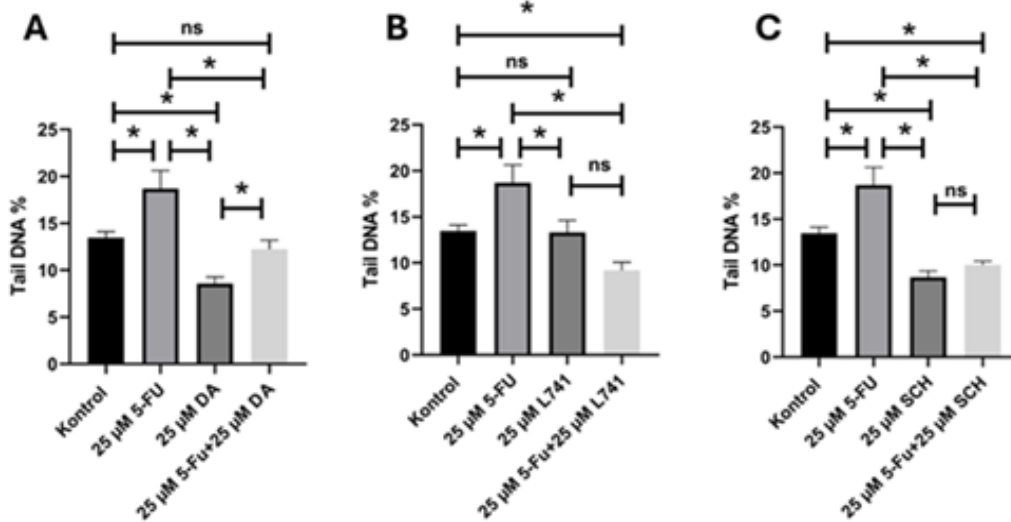
Yapılan MTT analizleri sonrası bileşiklerin tekli ve kombine uygulamalarında 25 µM'lık dozun daha belirgin sitosoksik etki ortaya koyduğu görüldü. Bu nedenle DNA hasarı analizlerinde bu dozun uygulamaları kullanıldı. Hasarın kısa süre ve uzun süre karşılaştırılmasının yapılması amacıyla 1 ve 24 saatlik uygulamalar gerçekleştirildi. DNA hasar düzeyi TD, TI, TL ve TM parametreleri kullanılarak belirlendi. Yapılan analizlere ait örnek hücre görselleri Şekil 4.8'da sunuldu.



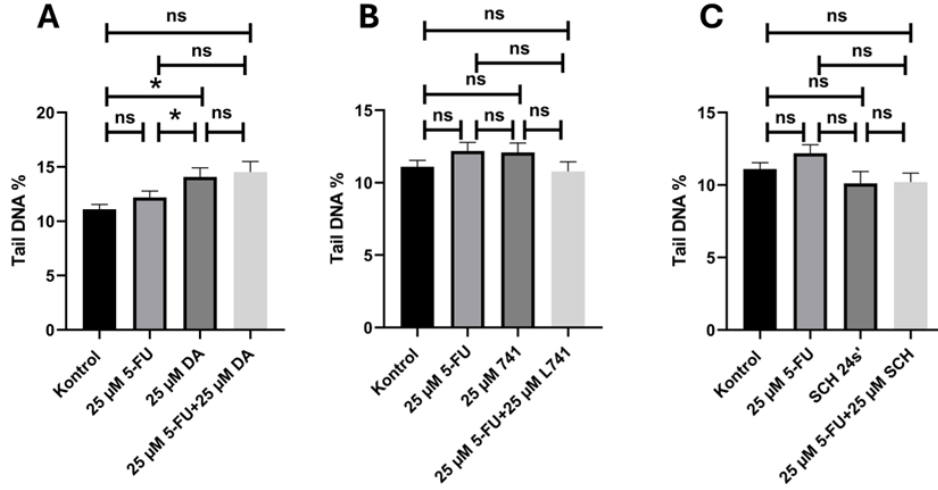
Şekil 4.8: Comet analizine ait mikroskop görüntüleri. MCF-7 hücrelerinin 25 μ M 5-FU, 25 μ M 5-FU+25 μ M DA, 25 μ M 5-FU+25 μ M L741 , 25 μ M 5-FU+25 μ M SCH uygulamasından 24 saat sonraki DNA hasar düzeyleri. A ve B: Kontrol hücreler, C ve D: 24 saat 5-FU uygulama sonrası, E ve F: 24 saat 5-FU+DA uygulama sonrası, G ve H 24 saat 5-FU+ L741 uygulama sonrası, J ve K: 24 saat 5-FU+SCH uygulaması sonrası. X100

4.2.1 Tail DNA % Sonuçları

Bileşiklerin 1 ve 24 saat uygulamaları sonrasında hücre DNA hasarı belirteçlerinden Tail DNA % parametresindeki gözlenen etkiler Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da sırasıyla gösterildi. Buna göre 1 saatlik uygulama sonrasında 5-FU kontrole kıyasla DNA hasarında artışa neden oldu ($p<0.05$). Tek başına uygulanan DA ve DR1 antagonisti (SCH) uygulanması sonrasında Tail DNA % seviyesi kontrole kıyasla düşük düzeydeydi ($p<0.05$). Buna karşın DR2 antagonisti uygulanması bu parametrede anlamlı bir değişime neden olmadı. Her üç bileşiğin 5-FU'ya kıyasla kombine uygulamaları 1 saatlik dönemde DNA hasarını önemli düzeyde engelledi ($p<0.05$). 24 saat uygulama sonrasında ise kontrol ve 5-FU arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, tek başına DA uygulamasının her iki gruba kıyasla DNA hasarını arttırdığı belirlendi ($p<0.05$). DR1 ve DR2 antagonistlerinin tekli ve kombine uygulamaları 24 saat sonrasında DNA hasarına anlamlı düzeyde etki etmedi (Şekil 4.9).



Şekil 4.9: Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde Tail DNA % değişimleri. A) DA; B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p<0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığı ifade eder. ns: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

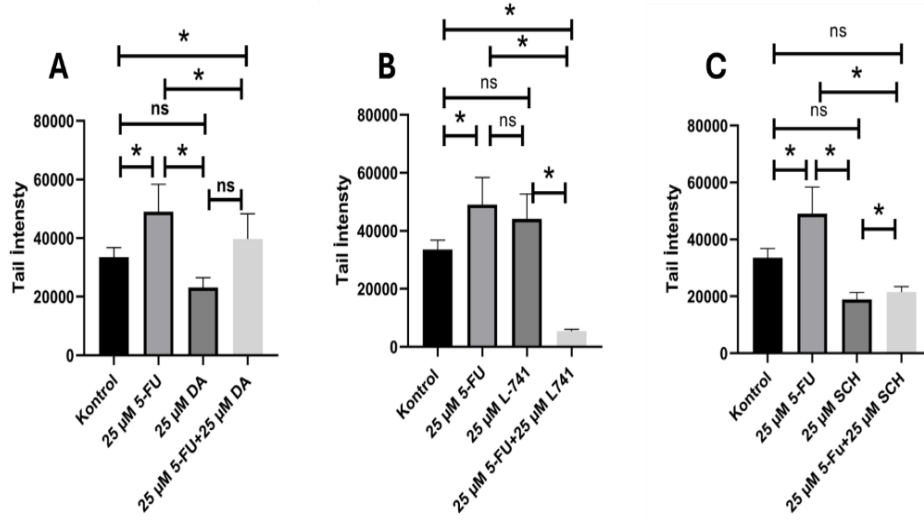


Şekil 4.10: Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TD değişimleri. A) DA, B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığı ifade eder. **ns**: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

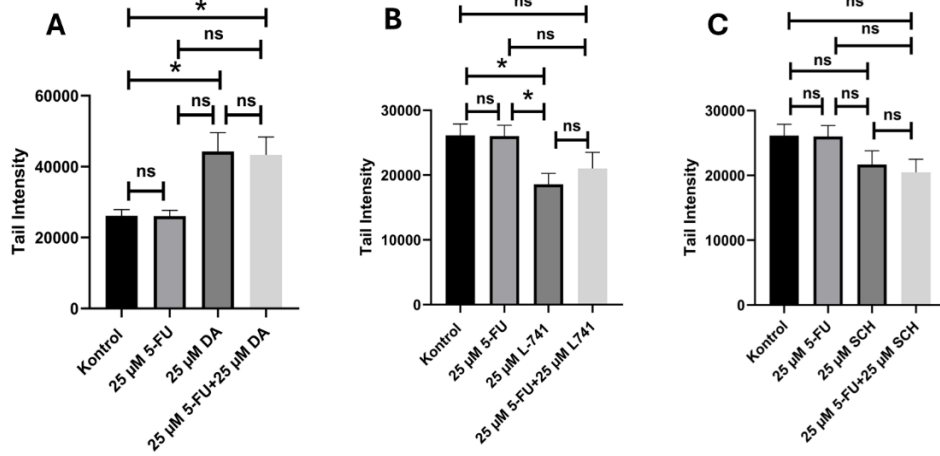
4.2.2 Tail Intensty Sonuçları

Bileşiklerin uygulamasından 1 saat sonra, MCF-7 hücre DNA'sında meydana gelen hasar düzeyinin TI parametresindeki değişimi Şekil 4.11'de sunuldu. Buna göre 5-FU'nun tekli uygulamaları kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde TI değerliğinde artışa neden oldu ($p < 0.05$). DA ve reseptör antagonistlerinin uygulaması ise kontrole kıyasla TI değerinde anlamlı bir değişime neden olmadı. Tekli uygulanan L741, 5-FU'ya kıyasla düşük düzeyde TI seviyesiyle sonuçlandı. Bileşiklerin 5-FU ile kombine uygulanması 5-FU'ya kıyasla TI parametresinin önemli düzeyde azalmasıyla sonuçlandı ($p < 0.05$). Bu sonuçlar her üç bileşiğin de kısa süreli olarak kombine tedavilerde 5-FU'nun açığa çıkardığı DNA hasarını engelleyebileceğini göstermektedir.

24 saat uygulamalar sonrasında, 5-FU ve kontrol grubu arasında TI düzeyleri bakımından bir farklılık görülmedi. Buna karşın DA ve 5-FU+ DA uygulamaları kontrol grubuna kıyasla TI düzeyinde anlamlı artışa neden oldu (Şekil 4.12A; $p < 0.05$). L741 uygulamasından 24 saat sonra kontrol ve 5-FU gruplarına kıyasla TI seviyesi anlamlı derecede düşüktü (Şekil 4.12B; $p < 0.05$). SCH 230390 uygulaması sonrasında gruplar arası bir farklılık gözlenmedi (Şekil 4.12C; $p < 0.05$).



Şekil 4.11: Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TI değişimleri. A) DA, B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığı ifade eder. **ns**: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

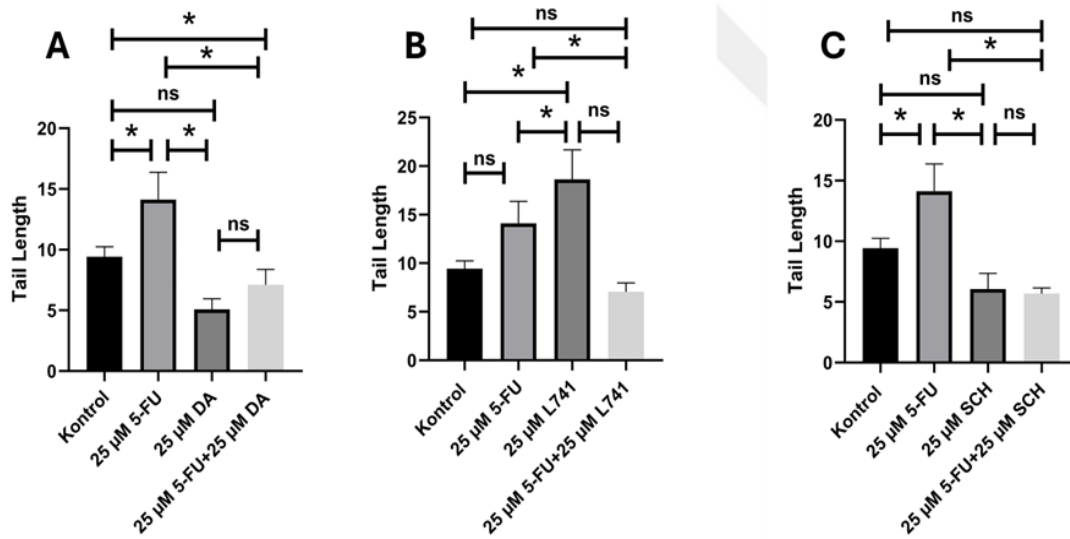


Şekil 4.12: Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TI değişimleri. A) DA, B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığı ifade eder. **ns**: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

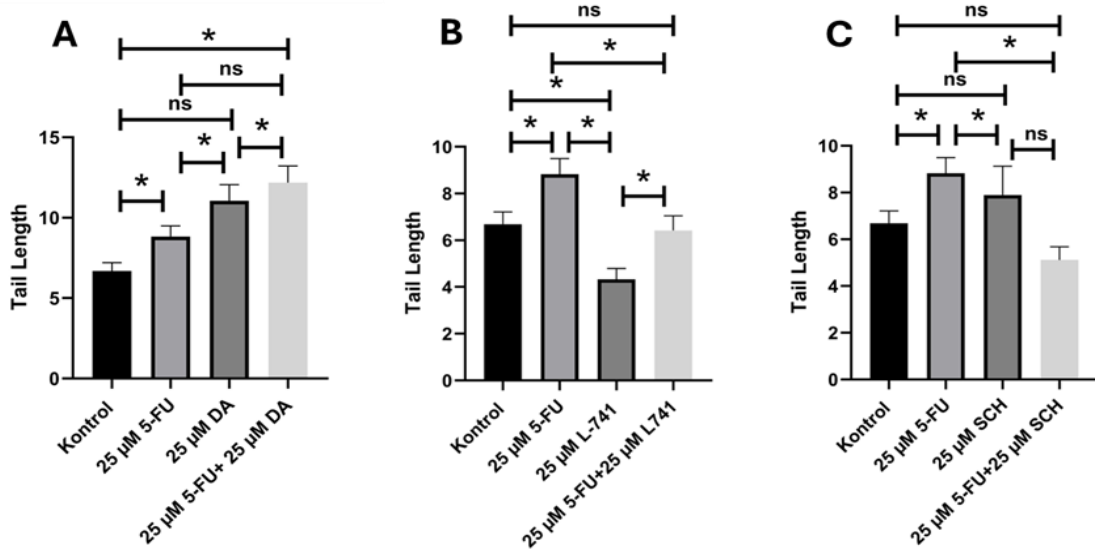
4.2.3 Tail Length Sonuçları

MCF-7 hücre DNA'sında meydana gelen hasar düzeyinin TL parametresindeki değişimleri Şekil 4.13 ve Şekil 4.14'te sunuldu. 1 saatlik DA ve SCH uygulaması sonrasında TL düzeyi kontrole benzer seviyedeysen, 5-FU ya kıyasla anlamlı düzeyde azalma gösterdi ($p<0.05$). Buna karşın L741 uygulaması kontrole ve 5-FU gruplarına kıyasla TL seviyesinde artışa neden oldu ($p<0.05$). 5-FU ve bileşiklerin birlikte uygulamaları 5-FU'ya kıyasla DNA hasarını anlamlı ölçüde azalttı (Şekil 4.13C; $p<0.05$).

24 saatlik 5-FU uygulaması kontrole göre TL parametresinde anlamlı artışa neden oldu ($p<0.05$). DA'nın tekli ve kombine uygulamaları, kontrol ve 5-FU'ya göre kısmen artış gösterdi ancak bu değişim anlamlı düzeyde gerçekleşmedi (Şekil 4.14A). Reseptör antagonistlerinin her ikisi de tekli ve kombine uygulamalarda 5-FU'ya kıyasla DNA hasarını azaltıcı etkiler sergiledi (Şekil 4.14B, C; $p<0.05$).



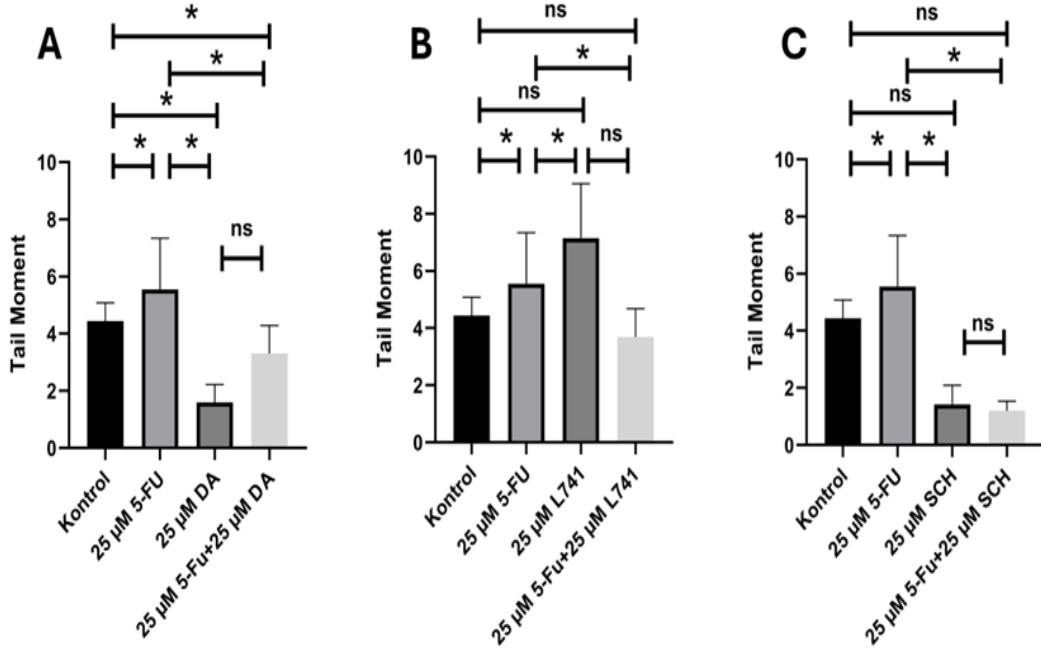
Şekil 4.13: Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TL değişimleri. A) DA, B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p<0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığını ifade eder. ns: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.



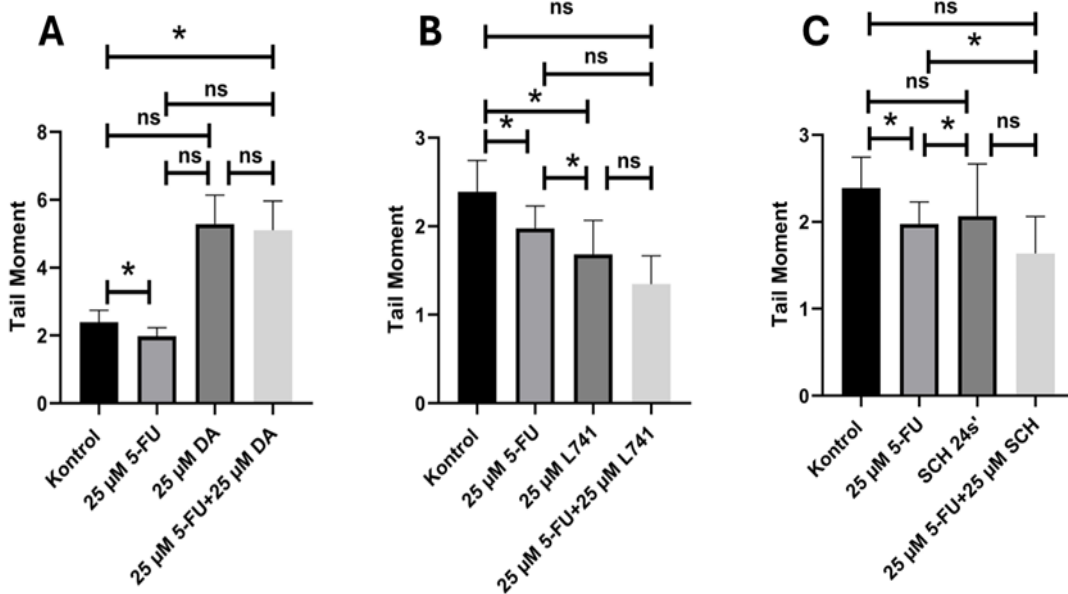
Şekil 4.14: Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TL değişimleri. A) DA, B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığı ifade eder. ns: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

4.2.4 Tail Moment Sonuçları

5-FU'nun uygulanmasından 1 saat sonra TM düzeyi kontrole kıyasla önemli düzeyde artış sergiledi (Şekil 4.15). DA ve SCH uygulamaları sonrasında TM seviyesi kontrol ve 5-FU grubuna göre azalma sergiledi ve DA uygulanan gruptaki bu azalmalar anlamlı görüldü ($p < 0.05$). Buna karşın L741 uygulanan grupta 5-FU'ya kıyasla bu parametre yüksek düzeyde belirlendi ($p < 0.05$). DA ve reseptör antagonistlerinin 5-FU ile kombine uygulamaları TM değerinin 5-FU grubuna göre azalmasıyla sonuçlandı ve bu gözlenen etki istatistiksel olarak anlamlıydı (Şekil 4.15; $p < 0.05$). Uygulamalardan 24 saat sonra kombine uygulamalardan sadece 5-FU+ SCH grubu, 5-FU grubuna göre DNA hasarını azalttı (Şekil 4.16C; $p < 0.05$).



Şekil 4.15: Bileşiklerin uygulanmasından 1 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TM değişimleri. A) DA B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığı ifade eder. ns: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.



Şekil 4.16: Bileşiklerin uygulanmasından 24 saat sonra MCF-7 hücrelerinde TM değişimleri. A) DA, B) DR2 reseptör antagonisti L741 ve C) DR1 reseptör antagonisti SCH uygulama sonuçları. Veriler ortalama±standart hata olarak ifade edildi. * $p < 0.05$ iki grup arasındaki anlamlılığı ifade eder. ns: İstatistiksel olarak anlamlı fark yoktur.

5-FU+DA kombinasyonu 5-FU'ya kıyasla MCF-7 hücrelerinde 10 μ M dozda hücre canlılığını azaltmada anlamlı sinerjik etki göstermezken; 25 μ M dozlarda anlamlı sinerjik etki gösterdi. DNA hasarı açısından bakıldığında kombinasyon; 1saatlik madde uygulamasından sonra 5-FU'e kıyasla anlamlı ölçüde sinerjik etki göstererek DNA hasarını azalttı. 24 saatlik madde uygulamasından sonra ise anlamlı sinerjik etki göstermedi. Bu da bize MCF-7 hücrelerinde Kombinasyonun DNA hasarı dışında bir mekanizma ile sitotoksik etki gösterdiğini düşündürdü.

5-FU+ L741 Kombinasyonu MCF-7 hücrelerinde, hücre canlılığını azaltmada her iki dozda da anlamlı sinerjik etki gösterdi. DNA hasarı açısından bakıldığında kombinasyon; 1saatlik madde uygulamasından sonra anlamlı ölçüde sinerjik etki göstererek DNA hasarını azalttı. 24 saatlik madde uygulamasından sonra ise "TL" parametresi haricinde anlamlı sinerjik etki göstermedi. Bu da bize MCF-7 hücrelerinde Kombinasyonun akut dönemde, DNA hasarı dışında bir mekanizma ile sitotoksik etki gösterdiğini düşündürdü.

5-FU+SCH Kombinasyonu 5-FU'ya kıyasla MCF-7 hücrelerinde 10 μ M dozda hücre canlılığını azaltmada her anlamlı sinerjik etki göstermezken; 25 μ M dozlarda anlamlı sinerjik etki gösterdi. DNA hasarı açısından 25 μ M dozlarda kombinasyon; 1saatlik madde uygulamasından sonra anlamlı ölçüde sinerjik etki göstererek DNA hasarını azalttı. 24 saatlik madde uygulamasından sonra ise "TL" parametresi haricinde anlamlı sinerjik etki göstermedi. Bu da bize MCF-7 hücrelerinde Kombinasyonun DNA hasarı dışında bir mekanizma ile sitotoksik etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

5. TARTIŞMA

Solunum zincirinin mitokondriyal disfonksiyonu, bu hücrelerde redoks aktif DA moleküllerinin varlığı ile, dopaminerjik nöronlarda reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikmesine yol açar. Bu artan ROS durumu hücresel kayıplara neden olmaktadır. DA'nın mitokondriyal disfonksiyonlu hücrelerde gösterdiği bu etki dolaylı yoldan hücre ölüm süreçlerine etki etmektedir (Pfeifer, 2024). Yapılan çalışmalar DA'nın endojen bakırı mobilize ederek insan lenfositlerinde hücresel DNA kırılmasına neden olduğunu bildirilmektedir. Ayrıca, L-DOPA ve DA aracılı DNA kırılmaları, yüksek bakır biriktiren kanser hücre hatlarında DNA hasarı sonrası duyarlı belirteç γ H2AX'in ortaya çıkmasıyla gösterilmiştir (Rehmani vd., 2017). Elde ettiğimiz bulgular DA'nın, uygulanmasından 72 saat sonra, anlamlı düzeyde hücre canlılığını azalttığını gösterdi. Buna ek olarak 1 saatlik uygulama sonrası DA'nın DNA hasarını azaltmasına karşın, 24 saatlik comet analiz sonuçları DA'nın DNA hasarını arttırdığını ortaya koydu. Sonuçlarımız DA'nın artan DNA hasarına neden olarak uzun dönemde hücre ölümüne aracılık edebileceğini desteklemektedir ve bulgularımız mevcut literatürle uyum sergilemektedir.

Yüksek doz SCH uygulaması sonrasında her üç zaman dilimin de hücre canlılığı yaklaşık %20 civarında bir azalma gösterdi. Comet analiz sonuçları ilk 1 saatlik uygulamalarda SCH'nin DNA hasarını önlediğini, 24 saat uygulamalarda ise kontrol ve 5- FU gruplarıyla hasar düzeyinin benzer olduğunu ortaya koydu. SCH'nin bu sonuçları MTT sonuçları ile bir arada değerlendirildiğinde, 24 saatlik uygulamanın DNA hasarından bağımsız bir şekilde hücre ölümüne neden olabileceğini göstermektedir. Gao ve arkadaşları (2017) yaptıkları çalışmada SKF-38393 (DR1 agonisti) uygulamasının DR1'i aşırı eksprese eden OS732 hücrelerinde proliferasyonunu azalttığını bildirmektedir. SKF-38393 uygulamasının hücrelerde ERK1/2, PI3K ve Akt fosforilasyonunu aşağı regüle ederek hücre canlılığını inhibe ettiğini gösterilmiştir (Gao vd., 2017). Diğer bir çalışmada DA, DR1 aktivasyonunun osteosarkom hücrelerinin (OS732) apoptozu üzerindeki etkileri ve mekanizmaları araştırılmıştır. Sonuçlar DR1 agonisti SKF-38393, OS732 hücrelerinin canlılığını azalttığını ve apoptoz oranlarını artırdığını göstermektedir. Buna karşın DR1 antagonisti SCH uygulamasının ise SKF- 38393'ün etkilerini ortadan kaldırdığını, sadece SCH uygulanan gruplarda kısmen apoptotik hücre ölümü görüldüğünü rapor edilmiştir. Araştırmacılar, DR1 aktivasyonunun (MAPK) yolağındaki değişiklikler yoluyla osteosarkom hücrelerinde apoptozu indüklediğini bildirmektedir (Li vd., 2016; Gao ve Gao, 2017). SCH

uygulamasının U87 hücrelerinde invazyonu ve migrasyonu inhibe ettiğini bildirmektedir (Yan ve Yang, 2018). Bu sonuç DA uygulamamızın MCF-7 hücrelerinde hücre canlılığını azaltıcı etkilerini desteklemektedir. Dahası SCH uygulanan gruplardaki kısmi sitotoksik etki de mevcut literatürle uyumlu görünmektedir. SCH'nin DNA hasarından bağımsız bir yol üzerinden hücre canlılığını azalttığını düşünmekteyiz.

DR2'nin kanser gelişim süreçlerinde rol oynayabileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Geçtiğimiz 20 yıl boyunca yapılan çalışmalar DR2 antagonistlerini hücre hatları ve hasta örneklerini kullanan *in vitro* çalışmalar yoluyla potansiyel antikanser terapötikleri olarak tanımlamıştır. DR2 antagonistleri için tipik *in vitro* hücre canlılığı deneyi bu bileşiklerin IC50 değerlerinin 5 ila 20 μ M arasında olduğunu, ancak DR2 antagonistlerinin kanser hücreleri için yalnızca mütevazı bir şekilde seçici olduğu bildirmektedirler. Choi ve arkadaşları (2008) bir DR-2 antagonisti olan Klorpromazin'in SK-MEL-28, HT29, Colo205, SW480, HCT116, MCF7 hücre serilerinde sitotoksositeye neden olduğunu ve bu bileşiğin hücre canlılığını %50 azaltıcı dozunun 4.8–14.5 μ M arası olduğunu bildirmiştir (Choi vd., 2008)

Mevcut çalışmalar, DR2 antagonistlerinin *in vitro* ve *in vivo* kanser çalışmaları bağlamında otofajik hücre ölümünü indükleyebildiğini öne sürmüştür. Bir trifluoperazin türevi olan A4'ün ağız kanseri hücrelerinde, ROS türlerini, DNA hasarını ve otofajik hücre ölümünü arttırdığı, aynı zamanda apoptoza neden olduğu ve AMP ile aktive olan protein kinaz K'yı (AMPK) aktive ettiği bildirilmektedir (Wu vd., 2016). AMPK fosforilasyon artışları DR2 antagonisti ile tedavi edilen glioblastoma (GBM) kök hücre kültürlerinde de görülmüştür (Cheng vd., 2015). Lee ve arkadaşları (2019), PC-3 insan prostat kanseri hücrelerinden türetilen kanser kök hücresi (KKH) benzeri hücrelerin, prostat KKH'lerinin özelliklerini pluripotansiyellik ve tümör oluşumu açısından karakterize ettiler. PC-3 hücre türevi küre kültüründen hazırlanan C5A hücrelerinin Oct4, Sox2 ve Klf4 gibi pluripotens belirteçlerini ifade ettiği gösterildi. Tiyoridazin gibi bazı DR antagonistleri, pluripotens belirteçlerinin ve tümör oluşturunuculuğunun azalmasına neden oldu. Tiyoridazin AMPK'nin fosforilasyonunu doza bağlı bir şekilde inhibe etti ve hücre canlılığında azalmaya neden oldu (Lee vd., 2019). Sonuçlarımız DR2 antagonistinin hücre canlılığını kısmen DNA hasarına neden olarak indüklediğini gösterdi. Mevcut literatürler dikkate alındığında çalışmamızda gözlenen etkinin otofaji aracılı hücre ölümü aracılı gerçekleştiği söylenebilir.

Paraoksonaz 2 (PON2), birçok dokuda eksprese edilen ve antioksidan özellikler gösteren hücre içi bir enzimdir (Garrick vd., 2022). Yapılan çalışmalarda, DR2 agonisti quinpirole'un PON2 ekspresyonunu *in vitro* olarak anlamlı düzeyde artırdığı, buna karşın DR1/5 agonisti olan fenoldopamin benzer bir etki göstermediği bildirilmiştir. Bu durum, PON2'nin özellikle DR2'ye özgü sinyalleme yollarında rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Aynı çalışmada, rekabetçi bir DR2 antagonisti olan L741'in 1 saatlik ön tedavi ve ardından 24 saatlik eş zamanlı uygulamayla quinpirole kaynaklı PON2 ekspresyon artışını ortadan kaldırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular, PON2 ekspresyon artışının doğrudan DR2 aktivasyonu ile ilişkili olduğunu ve bu etkinin DR3 gibi diğer hedeflere selektif olmayan bağlanmalardan kaynaklanmadığını desteklemektedir (Garrick vd., 2022).

Bu veriler ışığında, bizim çalışmamızda L741 uygulaması sonrasında MCF-7 hücre hattında gözlenen belirgin sitotoksitenin, PON2 ekspresyonunun baskılanması ve buna bağlı artan hücre içi oksidatif stresteki artışın sonucu olarak gerçekleştiği varsayabiliriz. Bu durum, DR2 antagonizmasının, antioksidan savunma mekanizmalarını zayıflatabileceğini ve hücre sağ kalımını olumsuz yönde etkileyebileceğini ortaya koymaktadır.

DR2'nin, genotoksisite üzerine etkilerini konu alan çalışmalar incelendiğinde, genotoksitenin ortam bileşenlerinden etkilenebileceğini göstermektedir. Dopamin yokluğunda DR2'nin kinpirol ile uyarılması PC12 hücrelerinde genotoksisiteye yol açmamıştır. Bu durum, DR2 aktivasyonunun tek başına DNA hasarı oluşturmadığını göstermektedir. Ancak dopamin varlığında, G-proteinlerin, fosfoinozitol 3-kinazın ve hücre dışı sinyalle düzenlenen kinazların inhibisyonu ile DR2 sinyalleşmesinin baskılanması, dopamin kaynaklı genotoksisiteyi azaltmıştır. Bu bulgu, DR2 sinyalleşmesinin dolaylı olarak genotoksisiteye katkı sunduğunu, muhtemelen dopamin taşıyıcısının (DAT) aktivitesini artırarak dopaminin hücre içine girişini kolaylaştırdığını ve böylece MAO aracılı oksidatif yıkıma zemin hazırladığını düşündürmektedir. Gerçekten de, MAO'nun inhibitörü olan Tranlycypromine hydrochloride (2-PCPA) ile yapılan uygulamalarda mikronükleus oluşumunun azalması, dopaminin hücre içi yıkımı sonucu oluşan reaktif oksidan türlerinin DNA hasarındaki rolünü desteklemektedir (Fazeli vd., 2011).

Ayrıca, DR2 antagonisti L741'in dopaminin hücre içine alımını engelleyerek olası oksidatif stresi azalttığı ve bu yolla genotoksisiteyi önleyebileceği öne sürülmektedir. Yapılan çalışmalar D2 benzeri reseptörlerin agonist aktivasyonu mitogenik aktivasyona, fosfolipaz D

(PLD) uyarımına, G proteini tarafından düzenlenen içe doğru akan potasyum kanallarının (GIRK) artan aktivitesine, MAP kinaz aktivasyonuna ve Na^+/H^+ değiştiricisinin aktivasyonuna yol açabildiği bildirilmiştir (Huff vd., 1997; Kuzhikandathil vd., 1998; Senogles, 2003; Neve vd., 2004).

MTT analiz sonuçlarındaki sitotoksik etki, dopamin yokluğunda DR2 reseptörlerinin hücre poliferasyonu ve anti-apoptotik etkilerinin, uyguladığımız DR2 antagonisti nedeni ile inhibe edilebileceği, bu nedenle DR2 reseptörlerinin sağkalım sinyallerinin engellenmesinden kaynaklı olabileceği öne sürülebilir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

DA, merkezi sinir sistemi ve periferik sistemde birçok biyolojik fonksiyonu düzenleyen bir nörotransmitterdir. DA, sinir hücreleri arasındaki iletişimi sağlar ve hareket, ödül, motivasyon gibi süreçlerde rol oynar. DR, DR1 benzeri ve DR2 benzeri olmak üzere iki ana tipe ayrılır ve her biri farklı hücresel etkiler gösterir. DR1 ve DR2 antagonistleri, bu reseptörlerin işlevlerini engelleyen bileşiklerdir. Kanseri tedavisinde DR'nin potansiyel rolü, kanser hücrelerinin büyüme, yayılma ve hayatta kalma süreçlerini etkileme olasılıklarıyla ilgilidir. DA'nın, kanser hücreleri üzerinde etkili olabileceği ve tümör mikro çevresinde bazı değişiklikler oluşturabileceği düşünülmektedir.

DR1 ve DR2 antagonistleri, çeşitli kanser türlerinde araştırılmıştır. Bu antagonistlerin, kanser hücrelerinin büyümesini ve metastazını inhibe edebileceği, kanser tedavisinin etkinliğini artırabileceği öne sürülmektedir. Özellikle, DA'nın kanser hücrelerinin proliferasyonunu ve invazyonunu teşvik etmesi göz önüne alındığında, DR antagonistlerinin bu süreçleri engelleyerek tedaviye katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar DA ve reseptörlerinin meme kanseri hücresinde zamana ve doza bağlı olarak sitotoksikite ortaya koyduğunu gösterdi. Bununla birlikte, bu alanda yapılan çalışmalar hala erken aşamalarda olup, DR antagonistlerinin güvenliği ve etkinliği konusunda daha fazla klinik araştırmaya ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, DR antagonistlerinin kanser tedavisinde kullanımı, potansiyel bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir, ancak bu terapötik stratejilerin daha ayrıntılı ve kapsamlı testlere tabi tutulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Akhtar, M., Dasgupta, S. ve Rangwala, M. (2015). Triple negative breast cancer: an Indian perspective. *Breast Cancer: Targets and Therapy*, 239-243.
- Akyolcu, N., Özhanlı, Y. ve Kandemir, D. (2019). Meme kanserinde güncel gelişmeler. *Sağlık Bilimleri ve Meslekleri Dergisi*, 6(3): 583-594.
- Ashok, A. H., Marques, T. R., Jauhar, S., Nour, M. M., Goodwin, G. M., Young, A. H. ve Howes, O. D. (2017). The dopamine hypothesis of bipolar affective disorder: the state of the art and implications for treatment. *Molecular Psychiatry*, 22(5): 666-679.
- Avşar, O. (2020). Tümör Gelişiminde ve Tedavisinde Dopamin ve Dopamin Reseptörlerinin Rolü. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 9(3): 250-258.
- Bäckman, L., Lindenberger, U., Li, S.-C. ve Nyberg, L. (2010). Linking cognitive aging to alterations in dopamine neurotransmitter functioning: recent data and future avenues. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 34(5): 670-677.
- Baez-Vallecillo, L., Raghavendra, A. S., Hess, K. R., Barcenas, C. H., Moulder, S. L., Tripathy, D., Valero, V. ve Murthy, R. K. (2019). Lapatinib activity in metastatic human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancers that received prior therapy with trastuzumab, pertuzumab, and/or ado-trastuzumab emtansine (T-DM1). *Breast Cancer Research and Treatment*, 176: 227-234.
- Baselga, J., Cortés, J., Kim, S.-B., Im, S.-A., Hegg, R., Im, Y.-H., Roman, L., Pedrini, J. L., Pienkowski, T. ve Knott, A. (2012). Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 366(2): 109-119.
- Basu, S., Nagy, J. A., Pal, S., Vasile, E., Eckelhoefer, I. A., Susan Bliss, V., Manseau, E. J., Dasgupta, P. S., Dvorak, H. F. ve Mukhopadhyay, D. (2001). The neurotransmitter dopamine inhibits angiogenesis induced by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Nature Medicine*, 7(5): 569-574.
- Belujon, P. ve Grace, A. A. (2017). Dopamine system dysregulation in major depressive disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(12): 1036-1046.
- Ben-Jonathan, N. (1985). Dopamine: a prolactin-inhibiting hormone. *Endocrine Reviews*, 6(4): 564-589.
- Ben-Jonathan, N., Borcharding, D. C. ve Hugo, E. R. (2022). Dopamine Receptors in Breast Cancer: Prevalence, Signaling, and Therapeutic Applications. *Critical Reviews™ in Oncogenesis*, 27(2): 51-71.
- Björklund, A. ve Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends in Neurosciences*, 30(5): 194-202.

- Bonadonna, G., Brusamolino, E., Valagussa, P., Rossi, A., Brugnatelli, L., Brambilla, C., De Lena, M., Tancini, G., Bajetta, E. ve Musumeci, R. (1976). Combination chemotherapy as an adjuvant treatment in operable breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 294(8): 405-410.
- Borcherding, D. C., Tong, W., Hugo, E. R., Barnard, D. F., Fox, S., LaSance, K., Shaughnessy, E. ve Ben-Jonathan, N. (2016). Expression and therapeutic targeting of dopamine receptor-1 (D1R) in breast cancer. *Oncogene*, 35(24): 3103-3113.
- Bourne, J. A. (2001). SCH 23390: the first selective dopamine D1-like receptor antagonist. *CNS Drug Reviews*, 7(4): 399-414.
- Brenton, J. D., Carey, L. A., Ahmed, A. A. ve Caldas, C. (2005). Molecular classification and molecular forecasting of breast cancer: ready for clinical application? *Journal of Clinical Oncology*, 23(29): 7350-7360.
- Bromberg-Martin, E. S., Matsumoto, M. ve Hikosaka, O. (2010). Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*, 68(5): 815-834.
- Carey, L. A., Dees, E. C., Sawyer, L., Gatti, L., Moore, D. T., Collichio, F., Ollila, D. W., Sartor, C. I., Graham, M. L. ve Perou, C. M. (2007). The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clinical Cancer Research*, 13(8): 2329-2334.
- Carlsson, A. (1959). The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacological Reviews*, 11(2): 490-493.
- Carlsson, A., Waters, N., Holm-Waters, S., Tedroff, J., Nilsson, M. ve Carlsson, M. L. (2001). Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 41(1): 237-260.
- Catsburg, C., Miller, A. B. ve Rohan, T. E. (2015). Active cigarette smoking and risk of breast cancer. *International Journal of Cancer*, 136(9): 2204-2209.
- Chen, X. ve Thibeault, S. (2013). Effect of DMSO concentration, cell density and needle gauge on the viability of cryopreserved cells in three dimensional hyaluronan hydrogel. 2013 35th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), IEEE, 2013:6228-6231.
- Cheng, H., Liang, Y., Kuo, Y., Chuu, C., Lin, C., Lee, M., Wu, A., Yeh, C.-T., Chen, E. I. ve Whang-Peng, J. (2015). Identification of thioridazine, an antipsychotic drug, as an antiglioblastoma and anticancer stem cell agent using public gene expression data. *Cell Death & Disease*, 6(5): e1753-e1753.
- Choi, J. H., Yang, Y. R., Lee, S. K., Kim, S. H., Kim, Y. H., Cha, J. Y., Oh, S. W., Ha, J. R., Ryu, S. H. ve Suh, P. G. (2008). Potential inhibition of PDK1/Akt signaling by phenothiazines suppresses cancer cell proliferation and survival. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1138(1): 393-403.

- Chu, H., Jin, G., Friedman, E. ve Zhen, X. (2008). Recent development in studies of tetrahydroprotoberberines: mechanism in antinociception and drug addiction. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 28: 491-499.
- Civelli, O., Bunzow, J. R. ve Grandy, D. K. (1993). Molecular diversity of the dopamine receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 33(1): 281-307.
- Creighton, C. J. (2012). The molecular profile of luminal B breast cancer. *Biologics: Targets and Therapy*, 6: 289-297.
- Cubells, J. F., van Kammen, D. P., Kelley, M. E., Anderson, G. M., O'Connor, D. T., Price, L. H., Malison, R., Rao, P. A., Kobayashi, K. ve Nagatsu, T. (1998). Dopamine β -hydroxylase: two polymorphisms in linkage disequilibrium at the structural gene DBH associate with biochemical phenotypic variation. *Human Genetics*, 102: 533-540.
- Cuevas, S., Villar, V. A., Jose, P. A. ve Armando, I. (2013). Renal dopamine receptors, oxidative stress, and hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(9): 17553-17572.
- DeSantis, C. E., Fedewa, S. A., Goding Sauer, A., Kramer, J. L., Smith, R. A. ve Jemal, A. (2016). Breast cancer statistics, 2015: Convergence of incidence rates between black and white women. *CA: A Cancer Journal For Clinicians*, 66(1): 31-42.
- Drăgănescu, M. ve Carmocan, C. (2017). Hormone therapy in breast cancer. *Chirurgia*, 112(4): 413-417.
- Fazeli, G., Oli, R. G., Schupp, N. ve Stopper, H. (2011). The Role of the Dopamine Transporter in Dopamine-Induced DNA Damage. *Brain Pathology*, 21(3): 237-248.
- Flemström, G., Säfsten, B. ve Jedstedt, G. (1993). Stimulation of mucosal alkaline secretion in rat duodenum by dopamine and dopaminergic compounds. *Gastroenterology*, 104(3): 825-833.
- Floresco, S. B. ve Magyar, O. (2006). Mesocortical dopamine modulation of executive functions: beyond working memory. *Psychopharmacology*, 188: 567-585.
- Gao, J. ve Gao, F. (2017). Dopamine D1 receptors induce apoptosis of osteosarcoma cells via changes of MAPK pathway. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 44(11): 1166-1168.
- Gao, J., Zhang, C., Gao, F. ve Li, H. (2017). The effect and mechanism of dopamine D1 receptors on the proliferation of osteosarcoma cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 430: 31-36.
- Garrick, J. M., Dao, K., Costa, L. G., Marsillach, J. ve Furlong, C. E. (2022). Examining the role of paraoxonase 2 in the dopaminergic system of the mouse brain. *BMC Neuroscience*, 23(1): 52.

- Geyer, C. E., Forster, J., Lindquist, D., Chan, S., Romieu, C. G., Pienkowski, T., Jagiello-Gruszfeld, A., Crown, J., Chan, A. ve Kaufman, B. (2006). Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *New England Journal of Medicine*, 355(26): 2733-2743.
- Gingrich, J. A. ve Caron, M. G. (1993). Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. *Annual Review of Neuroscience*, 16(1): 299-321.
- Girault, J.-A. ve Greengard, P. (2004). The neurobiology of dopamine signaling. *Archives of Neurology*, 61(5): 641-644.
- Glavin, G. B. ve Hall, A. M. (1995). Central and peripheral dopamine D1/DA1 receptor modulation of gastric secretion and experimental gastric mucosal injury. *General Pharmacology*, 26(6): 1277-1279.
- Goldhirsch, A., Winer, E. P., Coates, A., Gelber, R., Piccart-Gebhart, M., Thürlimann, B., Senn, H.-J., Albain, K. S., André, F. ve Bergh, J. (2013). Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Annals of Oncology*, 24(9): 2206-2223.
- Goldman-Rakic, P. S. (1997). The cortical dopamine system: role in memory and cognition. *Advances in Pharmacology*, 42: 707-711.
- Grant, C. E., Flis, A. L. ve Ryan, B. M. (2022). Understanding the role of dopamine in cancer: past, present and future. *Carcinogenesis*, 43(6): 517-527.
- Hamolsky, D. (2014). Nursing management breast disorders. *Medical Surgical Nursing Assessment and Management of Clinical Problems*. 9th ed. Canada: Mosby: 1238-1260.
- Heidelberger, C., Chaudhuri, N., Danneberg, P., Mooren, D., Griesbach, L., Duschinsky, R., Schnitzer, R., Plevin, E. ve Scheiner, J. (1957). Fluorinated pyrimidines, a new class of tumour-inhibitory compounds. *Nature*, 179(4561): 663-666.
- Heller, J. R. (1960). Advances in cancer research. *The Journal of Urology*, 83(5): 515-528.
- Hortobagyi, G. N., Connolly, J. L., D'Orsi, C. J., Edge, S. B., Mittendorf, E. A., Rugo, H. S., Solin, L. J., Weaver, D. L., Winchester, D. J. ve Giuliano, A. (2017). AJCC cancer staging manual. *Breast*, 2017: 589-636.
- Huff, R. M., Chio, C. L., Lajiness, M. E. ve Goodman, L. V. (1997). Signal transduction pathways modulated by D2-like dopamine receptors. *Advances in Pharmacology*, 42: 454-457.
- Iversen, S. D. ve Iversen, L. L. (2007). Dopamine: 50 years in perspective. *Trends in Neurosciences*, 30(5): 188-193.
- Jaber, M., Robinson, S. W., Missale, C. ve Caron, M. G. (1996). Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology*, 35(11): 1503-1519.

- Jantre, S. ve Mainkar, P. M. (2022). Breast Cancer Prediction Using Machine Learning Techniques. Smart Intelligent Computing and Applications, Volume 2: Proceedings of Fifth International Conference on Smart Computing and Informatics (SCI 2021), Springer.
- Jones, D. R., Moussaoud, S. ve McLean, P. (2014). Targeting heat shock proteins to modulate α -synuclein toxicity. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 7(1): 33-51.
- Kanan, N. (2018). Kalp ve Damar Sisteminin Cerrahi Hastalıkları ve Bakımı. *İçinde: Cerrahi Hemşireliği II, Akyolcu N, Kanan N, Aksoy G.(Eds.), Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti, İstanbul: 65-151.*
- Kebabian, J. W. ve Calne, D. B. (1979). Multiple receptors for dopamine. *Nature*, 277(5692).
- Kim, H.-J., Choo, H., Cho, Y. S., Koh, H. Y., No, K. T. ve Pae, A. N. (2006). Classification of dopamine, serotonin, and dual antagonists by decision trees. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14(8): 2763-2770.
- Kim, J. S., Kuk, E., Yu, K. N., Kim, J.-H., Park, S. J., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H. ve Hwang, C.-Y. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 3(1): 95-101.
- Kimura, M. (1968). Fluorescence histochemical study on serotonin and catecholamine in some plants. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 18(2): 162-168.
- Kobayashi, S., Sugiura, H., Ando, Y., Shiraki, N., Yanagi, T., Yamashita, H. ve Toyama, T. (2012). Reproductive history and breast cancer risk. *Breast Cancer*, 19: 302-308.
- Kotsopoulos, J., Lubinski, J., Moller, P., Lynch, H. T., Singer, C. F., Eng, C., Neuhausen, S. L., Karlan, B., Kim-Sing, C. ve Huzarski, T. (2014). Timing of oral contraceptive use and the risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers. *Breast Cancer Research and Treatment*, 143: 579-586.
- Kulma, A. ve Szopa, J. (2007). Catecholamines are active compounds in plants. *Plant Science*, 172(3): 433-440.
- Kurzban, R., Duckworth, A., Kable, J. W. ve Myers, J. (2013). An opportunity cost model of subjective effort and task performance. *Behavioral and Brain Sciences*, 36(6): 661-679.
- Kuzhikandathil, E. V., Yu, W. ve Oxford, G. S. (1998). Human dopamine D3 and D2L receptors couple to inward rectifier potassium channels in mammalian cell lines. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 12(6): 390-402.
- LaBarge, M. A., Mora-Blanco, E. L., Samson, S. ve Miyano, M. (2016). Breast cancer beyond the age of mutation. *Gerontology*, 62(4): 434-442.

- Latif, S., Jahangeer, M., Maknoon Razia, D., Ashiq, M., Ghaffar, A., Akram, M., El Allam, A., Bouyahya, A., Garipova, L., Ali Shariati, M., Thiruvengadam, M. ve Azam Ansari, M. (2021). Dopamine in Parkinson's disease. *Clinica Chimica Acta*, 522: 114-126.
- Lee, S. I., Roney, M. S. I., Park, J. H., Baek, J. Y., Park, J., Kim, S. K. ve Park, S. K. (2019). Dopamine receptor antagonists induce differentiation of PC-3 human prostate cancer cell-derived cancer stem cell-like cells. *The Prostate*, 79(7): 720-731.
- LEEBAW, W. F., LEE, L. A. ve WOOLF, P. D. (1978). Dopamine affects basal and augmented pituitary hormone secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 47(3): 480-487.
- Li, J., Yang, Z., Li, Y., Xia, J., Li, D., Li, H., Ren, M., Liao, Y., Yu, S., Chen, Y., Yang, Y. ve Zhang, Y. (2016). Cell apoptosis, autophagy and necroptosis in osteosarcoma treatment. *Oncotarget*, 7(28): 44763-44778.
- Li, J., Yao, Q.-y., Xue, J.-s., Wang, L.-j., Yuan, Y., Tian, X.-y., Su, H., Wang, S.-y., Chen, W.-j. ve Lu, W. (2017). Dopamine D2 receptor antagonist sulpiride enhances dexamethasone responses in the treatment of drug-resistant and metastatic breast cancer. *Acta Pharmacologica Sinica*, 38(9): 1282-1296.
- Lindström, L. S., Karlsson, E., Wilking, U. M., Johansson, U., Hartman, J., Lidbrink, E. K., Hatschek, T., Skoog, L. ve Bergh, J. (2012). Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *Journal of Clinical Oncology*, 30(21): 2601-2608.
- Liu, Q., Zhang, R., Zhang, X., Liu, J., Wu, H., Li, Y., Cui, M., Li, T., Song, H. ve Gao, J. (2021). Dopamine improves chemotherapeutic efficacy for pancreatic cancer by regulating macrophage-derived inflammations. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 70: 2165-2177.
- Medicine, N. L. o. "Pubchem/Dopamin".
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dopamine>. Son erişim: 16.07.2025
- Meisenzahl, E., Schmitt, G., Scheuerecker, J. ve Möller, H.-J. (2007). The role of dopamine for the pathophysiology of schizophrenia. *International Review of Psychiatry*, 19(4): 337-345.
- Melén-Mucha, G. (2001). Effects of short term treatment with pentagastrin, proglumide, tamoxifen given separately or together with 5-fluorouracil on the growth in the murine transplantable Colon 38 cancer. *Neoplasma*, 48(2): 133-138.
- Mishra, A., Singh, S. ve Shukla, S. (2018). Physiological and functional basis of dopamine receptors and their role in neurogenesis: possible implication for Parkinson's disease. *Journal of Experimental Neuroscience*, 12: 1179069518779829.
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M. ve Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews*, 78(1):189-225.

- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2): 55-63.
- Nardin, S., Mora, E., Varughese, F. M., D'Avanzo, F., Vachanaram, A. R., Rossi, V., Saggia, C., Rubinelli, S. ve Gennari, A. (2020). Breast cancer survivorship, quality of life, and late toxicities. *Frontiers in Oncology*, 10: 864.
- Neve, K. A., Seamans, J. K. ve Trantham-Davidson, H. (2004). Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res*, 24(3): 165-205.
- Olivares-Hernández, A., Figuero-Pérez, L., Cruz-Hernandez, J. J., González Sarmiento, R., Usategui-Martin, R. ve Miramontes-González, J. P. (2021). Dopamine receptors and the kidney: an overview of health-and pharmacological-targeted implications. *Biomolecules*, 11(2): 254.
- Olive, P. L. ve Banáth, J. P. (2006). The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. *Nature Protocols*, 1(1): 23-29.
- Osinga, T. E., Links, T. P., Dullaart, R. P. F., Pacak, K., van der Horst-Schrivers, A. N. A., Kerstens, M. N. ve Kema, I. P. (2017). Emerging role of dopamine in neovascularization of pheochromocytoma and paraganglioma. *FASEB J*, 31(6): 2226-2240.
- Perou, C. M., Jeffrey, S. S., Van De Rijn, M., Rees, C. A., Eisen, M. B., Ross, D. T., Pergamenschikov, A., Williams, C. F., Zhu, S. X. ve Lee, J. C. (1999). Distinctive gene expression patterns in human mammary epithelial cells and breast cancers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(16): 9212-9217.
- Pfeifer, G. P. (2024). DNA Damage and Parkinson's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(8): 4187.
- Pornour, M., Ahangari, G., Hejazi, S. H. ve Deezagi, A. (2015). New perspective therapy of breast cancer based on selective dopamine receptor D2 agonist and antagonist effects on MCF-7 cell line. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 10(2): 214-223.
- Rebbeck, T., Couch, F., Kant, J., Calzone, K., DeShano, M., Peng, Y., Chen, K., Garber, J. ve Weber, B. (1996). Genetic heterogeneity in hereditary breast cancer: role of BRCA1 and BRCA2. *American Journal of Human Genetics*, 59(3): 547.
- Rehmani, N., Zafar, A., Arif, H., Hadi, S. M. ve Wani, A. A. (2017). Copper-mediated DNA damage by the neurotransmitter dopamine and L-DOPA: A pro-oxidant mechanism. *Toxicology in Vitro*, 40: 336-346.
- Reinert, T. ve Barrios, C. H. (2015). Optimal management of hormone receptor positive metastatic breast cancer in 2016. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 7(6): 304-320.

- Rosas-Cruz, A., Salinas-Jazmín, N., Valdés-Rives, A. ve Velasco-Velázquez, M. A. (2022). DRD1 and DRD4 are differentially expressed in breast tumors and breast cancer stem cells: pharmacological implications. *Translational Cancer Research*, 11(11): 3941.
- Rouzier, R., Perou, C. M., Symmans, W. F., Ibrahim, N., Cristofanilli, M., Anderson, K., Hess, K. R., Stec, J., Ayers, M. ve Wagner, P. (2005). Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clinical Cancer Research*, 11(16): 5678-5685.
- Rubi, B. ve Maechler, P. (2010). Minireview: new roles for peripheral dopamine on metabolic control and tumor growth: let's seek the balance. *Endocrinology*, 151(12): 5570-5581.
- Sandhu, G. S., Erqou, S., Patterson, H. ve Mathew, A. (2016). Prevalence of triple-negative breast cancer in India: systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Oncology*, 2(6): 412-421.
- Santana, N., Mengod, G. ve Artigas, F. (2009). Quantitative analysis of the expression of dopamine D1 and D2 receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 19(4): 849-860.
- Sarkar, C., Basu, B., Chakroborty, D., Dasgupta, P. S. ve Basu, S. (2010). The immunoregulatory role of dopamine: An update. *Brain, Behavior, and Immunity*, 24(4): 525-528.
- Sarkar, C., Chakroborty, D., Chowdhury, U. R., Dasgupta, P. S. ve Basu, S. (2008). Dopamine Increases the Efficacy of Anticancer Drugs in Breast and Colon Cancer Preclinical Models. *Clinical Cancer Research*, 14(8): 2502-2510.
- Sarkar, C., Chakroborty, D., Goswami, S., Fan, H., Mo, X. ve Basu, S. (2022). VEGF-A controls the expression of its regulator of angiogenic functions, dopamine D2 receptor, on endothelial cells. *Journal of Cell Science*, 135(11): jcs259617.
- Scemama, J., Ruellan, C., Clerc, P., Clemente, F. ve Ribet, A. (1984). Dopamine receptors in a human colonic cancer cell line (HT29). Some receptor-related biological effects of dopamine. *International Journal of Cancer*, 34(5): 675-679.
- Schultz, W., Apicella, P. ve Ljungberg, T. (1993). Responses of monkey dopamine neurons to reward and conditioned stimuli during successive steps of learning a delayed response task. *Journal of Neuroscience*, 13(3): 900-913.
- Sealfon, S. C. ve Olanow, C. W. (2000). Dopamine receptors: from structure to behavior. *Trends in Neurosciences*, 23: S34-S40.
- Seamans, J. K. ve Yang, C. R. (2004). The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Progress in Neurobiology*, 74(1): 1-58.
- Senogles, S. E. (2003). D2s dopamine receptor mediates phospholipase D and antiproliferation. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 209(1-2): 61-69.

- Senogles, S. E. (2007). D2 dopamine receptor-mediated antiproliferation in a small cell lung cancer cell line, NCI-H69. *Anti-cancer Drugs*, 18(7): 801-807.
- Sharma, B., Kalwar, A., Sharma, N., Kapoor, A. ve Kumar, N. (2013). Five year retrospective survival analysis of triple negative breast cancer in North-West India. *Indian Journal of Cancer*, 50(4): 330-332.
- Singh, N. P. (2016). The comet assay: Reflections on its development, evolution and applications. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 767: 23-30.
- Slamon, D. J., Clark, G. M., Wong, S. G., Levin, W. J., Ullrich, A. ve McGuire, W. L. (1987). Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, 235(4785): 177-182.
- Smith, H. S., Cox, L. R. ve Smith, B. R. (2012). Dopamine receptor antagonists. *Annals of Palliative Medicine*, 1(2): 137-142.
- Solanto, M. V. (2002). Dopamine dysfunction in AD/HD: integrating clinical and basic neuroscience research. *Behavioural Brain Research*, 130(1-2): 65-71.
- Speranza, L., di Porzio, U., Viggiano, D., de Donato, A. ve Volpicelli, F. (2021). Dopamine: The Neuromodulator of Long-Term Synaptic Plasticity, Reward and Movement Control. *Cells*, 10(4): 735.
- Stoof, J. C. ve Kebabian, J. W. (1984). Two dopamine receptors: Biochemistry, physiology and pharmacology. *Life Sciences*, 35(23): 2281-2296.
- Suh, J. S., Yoo, K. Y., Kwon, O. J., Yun, I. J., Han, S., Noh, D. ve Choe, K. (1996). Menstrual and reproductive factors related to the risk of breast cancer in Korea. *J of Korean Medical Science*, 11: 501-508.
- Tamimi, R. M., Colditz, G. A., Hazra, A., Baer, H. J., Hankinson, S. E., Rosner, B., Marotti, J., Connolly, J. L., Schnitt, S. J. ve Collins, L. C. (2012). Traditional breast cancer risk factors in relation to molecular subtypes of breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 131: 159-167.
- Thakur, K. K., Bordoloi, D. ve Kunnumakkara, A. B. (2018). Alarming Burden of Triple-Negative Breast Cancer in India. *Clinical Breast Cancer*, 18(3): e393-e399.
- Trayes, K. P. ve Cokenakes, S. E. (2021). Breast cancer treatment. *American Family Physician*, 104(2): 171-178.
- Trillo, L., Das, D., Hsieh, W., Medina, B., Moghadam, S., Lin, B., Dang, V., Sanchez, M. M., De Miguel, Z. ve Ashford, J. W. (2013). Ascending monoaminergic systems alterations in Alzheimer's disease. Translating basic science into clinical care. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(8): 1363-1379.
- Türkyılmaz, M., Oruç Hamavioğlu, E. İ., DüNDAR, S., Kavak Ergün, A., Sevinç, A. ve Türüncü, S. "Türkiye Kanser İstatistikleri 2018".

https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/kanser-db/Dokumanlar/Istatistikler/Kanser_Rapor_2018.pdf. Son erişim tarihi:16.07.2025.

- Vallone, D., Picetti, R. ve Borrelli, E. (2000). Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(1): 125-132.
- Vangveravong, S., Taylor, M., Xu, J., Cui, J., Calvin, W., Babic, S., Luedtke, R. R. ve Mach, R. H. (2010). Synthesis and characterization of selective dopamine D2 receptor antagonists. 2. Azaindole, benzofuran, and benzothiophene analogs of L-741,626. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 18(14): 5291-5300.
- Végh, A. M., Duim, S. N., Smits, A. M., Poelmann, R. E., Ten Harkel, A. D., DeRuiter, M. C., Goumans, M. J. ve Jongbloed, M. R. (2016). Part and parcel of the cardiac autonomic nerve system: unravelling its cellular building blocks during development. *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 3(3): 28.
- Verma, A., Kommaddi, R. P., Gnanabharathi, B., Hirsch, E. C. ve Ravindranath, V. (2023). Genes critical for development and differentiation of dopaminergic neurons are downregulated in Parkinson's disease. *Journal of Neural Transmission*, 130(4): 495-512.
- Volkow, N., Fowler, J., Wang, G., Logan, J., Schlyer, D., MacGregor, R., Hitzemann, R. ve Wolf, A. (1994). Decreased dopamine transporters with age in healthy human subjects. *Annals of Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society*, 36(2): 237-239.
- Wang, S., Mou, Z., Ma, Y., Li, J., Li, J., Ji, X., Wu, K., Li, L., Lu, W. ve Zhou, T. (2015). Dopamine enhances the response of sunitinib in the treatment of drug-resistant breast cancer: Involvement of eradicating cancer stem-like cells. *Biochemical pharmacology*, 95(2): 98-109.
- Wang, Z.-Q., Siragy, H. M., Felder, R. A. ve Carey, R. M. (1997). Intrarenal dopamine production and distribution in the rat: physiological control of sodium excretion. *Hypertension*, 29(1): 228-234.
- WHO. <https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>. Son erişim: 16.07.2025.
- Wick, M. M. ve Mui, A. (1981). Synthesis and Biologic Evaluation of the Dopamine Analog N-Acetyldopamine in Experimental Leukemia in Mice². *JNCI: Journal of The National Cancer Institute*, 66(2): 351-354.
- Wu, C.-H., Bai, L.-Y., Tsai, M.-H., Chu, P.-C., Chiu, C.-F., Chen, M. Y., Chiu, S.-J., Chiang, J.-H. ve Weng, J.-R. (2016). Pharmacological exploitation of the phenothiazine antipsychotics to develop novel antitumor agents—A drug repurposing strategy. *Scientific Reports*, 6(1): 27540.
- Wuerstlein, R. ve Harbeck, N. (2017). Neoadjuvant therapy for HER2-positive breast cancer. *Reviews on Recent Clinical Trials*, 12(2): 81-92.

- Wulff, S., Pinborg, L. H., Svarer, C., Jensen, L. T., Nielsen, M. Ø., Allerup, P., Bak, N., Rasmussen, H., Frandsen, E., Rostrup, E. ve Glenthøj, B. Y. (2015). Striatal D2/3 Binding Potential Values in Drug-Naïve First-Episode Schizophrenia Patients Correlate With Treatment Outcome. *Schizophrenia Bulletin*, 41(5): 1143-1152.
- Yan, J. ve Yang, R. (2018). Dopamine receptor D1 promotes the proliferation, invasion and migration of gliomas by inhibiting cAMP signaling pathway. *Xi bao yu fen zi Mian yi xue za zhi= Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 34(12): 1116-1121.
- Yang, S., Boudier-Revéret, M., Choo, Y. J. ve Chang, M. C. (2020). Association between chronic pain and alterations in the mesolimbic dopaminergic system. *Brain Sciences*, 10(10): 701.
- Yang, X. ve Lippman, M. E. (1999). BRCA1 and BRCA2 in breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, 54: 1-10.
- Yeragani, V. K., Tancer, M., Chokka, P. ve Baker, G. B. (2010). Arvid Carlsson, and the story of dopamine. *Indian Journal of Psychiatry*, 52(1): 87-88.
- Yersal, O. ve Barutca, S. (2014). Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(3): 412.
- Yuan, C., Gao, J., Guo, J., Bai, L., Marshall, C., Cai, Z., Wang, L. ve Xiao, M. (2014). Dimethyl Sulfoxide Damages Mitochondrial Integrity and Membrane Potential in Cultured Astrocytes. *PLoS One*, 9(9): e107447.
- Zhang, X., Liu, Q., Liao, Q. ve Zhao, Y. (2017). Potential Roles of Peripheral Dopamine in Tumor Immunity. *J Cancer*, 8(15): 2966-2973.
- Zheng, L.-F., Liu, S., Zhou, L., Zhang, X.-L., Yu, X. ve Zhu, J.-X. (2021). *Dopamine and gastrointestinal motility. Dopamine in the Gut*, Singapore: Springer.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Mutlu Ünal

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi

Yüksek Lisans Öğrenimi : Bartın Üniversitesi Lisansüstü Enstitüsü Moleküler
Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller

Bilimsel Faaliyet/Yayınlar :

İş Deneyimi

Stajlar :

Projeler :

Çalıştığı Kurumlar :

İletişim

E-Posta Adresi :

Tarih

