

← Adınızı adınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



← Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak

← Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**GLİOMA HÜCRELERİNDE ANTİPSİKOTİK İLAÇLAR VE
ADİPOKİNETİK HORMONUN BEYİN KAYNAKLI
NÖROTROFİK FAKTÖR ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

"ADI SOYADI" SİBEL DOĞAN

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. SİBEL KÖKTÜRK**

**İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HİSTOLOJİ VE
EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI

(Bu sayfa yerine, başarılı geçen Tez Sınavı sonrası sınav tutanağı ekinde yer alan Tez Onay sayfası gelecektir.)



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

SİBEL DOĞAN



İTHAF

Sevgilerini her zaman hissettiğim sevgili annem, babam ve kardeşlerime eğitim konusunda ki desteğini hiç unutmayacağım eşim Özcan Doğan'a, en değerlilerim; kızlarım Öykü Doğan ve Azra Ekin Doğan'a ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Tezimin başlangıç aşamasından son aşamasına kadar her zaman yanımda olan, fikir veren ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sayın danışman hocam Doç. Dr. Sibel KÖKTÜRK'e sonsuz teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimime olan değerli katkılarından dolayı İstanbul Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Seyhun SOLAKOĞLU hocama, Doç. Dr. Tuğba KOTİL, Dr. Öğretim Üyesi Elif KERVANCIOĞLU DEMİRCİ, emekli hocalarımız Prof. Dr. Yurdagül Canberk, Prof. Dr. Ayhan BİLİR Prof. Dr. Bülent AHISHALI ve Prof. Dr. Leyla TAPUL'a

Tüm yüksek lisans eğitim sürecim boyunca her türlü aşamada ve konuda yanımda olan, en büyük destekçilerim Doktora öğrencisi Feride ÖZDEMİR, Araş. Gör. Emel USTA, Tıbbi. Bio. İlkay ÖZDEMİR, Bio. Aysel AKYÜZ CİVAN'a,

Her zaman ve her konuda yanımda olan, Araş. Gör. Aslı ERDOĞAN, Uzman Dr. Fatmanur KARAKUŞ, Araş. Gör. Tuğba EKİZ YILMAZ, Araş. Gör. Hasan Serdar MUTLU ve Aras.Gör. Türkan SARIOĞLU ve Bio.Fusun ÖNCÜ'ye

Elektron mikroskopik çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Biyolog Funda Onar'a, Biyolog Fadime Aktar'a ve Biyolog Ebru Karabulut Akyön'e

Bölüm sekreterimiz Sosyolog Gülcan Öztürk'e, anabilim dalımız çalışanları değerli abim Selahattin Ünal, Mehmet ERENLER, Alaattin TAŞ, tüm yükümüzü çeken Arif ÇORUK'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No:34745

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN	iii
İTHAF	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. C6 GLİOMA HÜCRE HATTI.....	3
2.2. C6 GLİOMA HÜCRE HATTINDA APOPTOZ VE OTOFAJİ.....	3
2.3. APOPTOZA GİDEN C6 GLİOMA HÜCRE HATTI TİPLERİ.....	4
2.4. NÖROTROFİNLER	7
2.4.1. BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR	7
2.5. ANTİPSİKOTİK İLAÇLAR.....	9
2.6. ADİPOKİNETİK HORMON.....	12
2.7. MİGRAZOMLAR	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. HÜCRE KÜLTÜRÜ DENEY ÖNCESİ HAZIRLIK.....	19
3.2. HÜCRELERİN PROLİFERASYONU	19
3.3. HÜCRELERİN PASAJLANMASI	19
3.4. İLAÇ VE HORMON İÇİN DOZ HAZIRLIKLARI	20
3.5. İLAÇ VE HORMON DOZLARIN UYGULANMASI.....	20
3.6. İMMÜNOSİTOKİMYASAL BOYAMALAR	21
3.6.1. BDNF İMMÜNOHİSTOKİMYA BOYAMA	21
3.6.2. BDNF İMMÜNOFLORASAN BOYAMA	22
3.6.3. GÖRÜNTÜ ANALİZİ	22
3.7. ELEKTRON MİKROSKOP TAKİBİ	23

3.8. İSTATİKSEL ANALİZ	23
4. BULGULAR	24
4.1. CANLI VE ÖLÜ HÜCRE SAYIMLARI	24
4.2. BDNF İMMÜNOSİTOKİMYA BOYAMASI	25
4.3. BDNF İMMÜNFLORESAN BOYAMASI	44
4.4. GFAP İMMÜNOSİTOKİMYASAL BOYAMASI	50
4.5. ELEKTRON MİKROSKOBU BULGULARI	51
5. TARTIŞMA	72
KAYNAKLAR	77
HAM VERİLER	85
FORMLAR	86
ETİK KURUL KARARI	87
PATENT HAKKI İZNİ	88
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	89
ÖZGEÇMİŞ	90

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.3.1. Apoptoza giden C6 glioma hücre tipleri. T-I ‘de nukles por cap (okbaşı), sitoplazmada nukleolus benzeri cisim (kısa ok). T-III ‘de, kesintili nuklear kılıf (nuclear envelope) (kısa oklar) (43). T-IV ‘de apoptotik cisimler (AB) (43).	6
Şekil 2.7.1. Ekzozomlar, MVB 'ler ve migrazomlar arasındaki ilişkinin gösterimi (161).	17
Şekil 2.7.2. Ekstraselüler vezikül tiplerinin şeması. Farklı ekstraselüler vezikül tiplerinin farklı boyutları ve salgı yolları vardır (163).	18
Şekil 4.1.1. Kontrol, klozapin, haloperidol, Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarının canlı ve ölü hücre sayımlarını gösteren grafik.	24
Şekil 4.2.1. Kontrol, klozapin, haloperidol, Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarının image J analiz programı kullanılarak, BDNF immünohistokimyasal boyanma şiddetini gösteren grafik. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gösteren gruplar *** işareti ile belirtilmiştir ($p < 0,001$).	26
Şekil 4.2.2. Kontrol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları). Bar 20 μ m.	27
Şekil 4.2.3. Kontrol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Piknotik hücreler (oklar). Bar 20 μ m.	28
Şekil 4.2.4. Kontrol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	29
Şekil 4.2.5. Klozapin grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Multinuklear ve sitoplazmasında vakuoller içeren hücre (kalın ok), sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları), piknotik hücre (ok). Bar 20 μ m.	30
Şekil 4.2.6. Klozapin grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 μ m.	31
Şekil 4.2.7. Klozapin grubunun BDNF immünohistokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	32

Şekil 4.2.8. Haloperidol grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.	33
Şekil 4.2.9. Haloperidol grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.	34
Şekil 4.2.10. Haloperidol grubunun BDNF immünositokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	35
Şekil 4.2.11. Ani-AKH-5 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücre (okbaşı), piknotik hücre (ok). Bar 20 µm.	36
Şekil 4.2.12. Ani-AKH-5 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları). Bar 20 µm.	37
Şekil 4.2.13. Ani-AKH-5 grubunun BDNF immünositokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	38
Şekil 4.2.14. Ani-AKH-10 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.	39
Şekil 4.2.15. Ani-AKH-10 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.	40
Şekil 4.2.16. Ani-AKH-10 grubunun BDNF immünositokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	41
Şekil 4.2.17. Ani-AKH-50 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.	42
Şekil 4.2.18. Ani-AKH-50 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.	43
Şekil 4.2.19. Ani-AKH-50 grubunun BDNF immünositokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.	44

Şekil 4.3.1. Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. x40 büyütme. Bar 20 µm.	45
Şekil 4.3.2. Klorzapin grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 µm.	46
Şekil 4.3.3. Haloperidol grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 µm.	47
Şekil 4.3.4. Ani-AKH-5 grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 µm.	48
Şekil 4.3.5. Ani-AKH-10 grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 µm.	49
Şekil 4.3.6. Ani-AKH-50 grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 µm.	50
Şekil 4.4.1. Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin GFAP immünositokimya boyamasına ait ışık mikroskobu fotoğrafı. x40 büyütme.	51
Şekil 4.5.1. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin yüzeyinde filopodlar görülmektedir. Nükleus (N), filopod (ok).	53
Şekil 4.5.2. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, normal ve dejeneratif (asterisk).C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N) ve vakuol (okbaşı).	54
Şekil 4.5.3. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında, endoplazmik retikulum sisternası (okbaşıları) ve mitokondriyumlar (Mi) görülmektedir. Nükleus (N) ve nukleolus (beyaz asterisk).	55
Şekil 4.5.4. Klorzapin grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşıları), tomurcuklanmalar (siyah okbaşıları).	56
Şekil 4.5.5. Klorzapin grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Kondense nükleuslar (N), vakuoller (beyaz okbaşıları) ve hücre tomurcuklanmaları (siyah okbaşıları).	57
Şekil 4.5.6. Klorzapin grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında bir araya gelerek kümeler oluşturan çok sayıda büyük vakuoller (okbaşıları) ve nükleus invajinasyonu (beyaz ok) görülmektedir.	58

Şekil 4.5.7. Haloperidol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşıları) ve hücre tomurcuklanmaları (siyah okbaşıları).....	59
Şekil 4.5.8. Haloperidol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşıları), hücre tomurcuklanmaları (siyah okbaşıları).	60
Şekil 4.5.9. Haloperidol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin sitoplazmasında çok sayıda otofagozom görülmektedir.....	61
Şekil 4.5.10. Ani-AKH-5 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinde, nükleus (N), çok sayıda mitokondriyum (Mi), az sayıda vakuol (beyaz okbaşı), ve filopodlar (siyah okbaşı) görülmektedir.	62
Şekil 4.5.11. Ani-AKH-5 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşıları), filopodlar (siyah ok) ve migrazom (beyaz ok) görülmektedir.	63
Şekil 4.5.12. Ani-AKH-5 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), mitokondriyum (Mi), vakuoller (beyaz okbaşıları) ve migrazom (beyaz ok) görülmektedir.	64
Şekil 4.5.13. Ani-AKH-10 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin nükleusu (N), mitokondriyumlar (Mi) vakuoller (beyaz okbaşıları) ve hücre yüzeyinde az sayıda filopod (ok) görülmektedir.....	65
Şekil 4.5.14. Ani-AKH-10 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin genel ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), ve migrazomlar (beyaz oklar) görülmektedir.....	66
Şekil 4.5.15. Ani-AKH-10 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin genel ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N) ve migrazomlar (beyaz oklar) görülmektedir.....	67
Şekil 4.5.16. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleusu (N). Mitokondriyumlar (Mi) az sayıda vakuol ve filopod içeren hücrenin yanında otofajik vakuollerle dolu hücre kalıntısı görülmektedir.....	68
Şekil 4.5.17. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin genel ultrastrüktürü görülmektedir. Sitoplazmasında büyük vakuoller içeren C6 hücresi ile kondanse nükleus ve tomurcuklanmalar içeren C6 hücresi	

gör÷lmektedir. N÷kleusu (N), (beyaz okbaşı), vakuoller (beyaz okbaşıları) ve tomurcuklanmalar (siyah okbaşıları).....	69
Şekil 4.5.18. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin genel ultrastrüktürü gör÷lmektedir. N÷kleus (N). Otofajik vakuoller (beyaz okbaşıları).	70
Şekil 4.5.19. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin nükleusu (N), sitoplazmasında mitokondriyumlar (Mi) ve endoplazmik retikulum sisternası gör÷lmektedir.....	71



Adipokinetik hormonlar: AKHs

Adipokinetik hormon / kırmızı pigment konsantre edici hormon: AKH / RPCH

Anax imperator adipokinetik hormon: Ani-AKH

Antipsikotik ilaçlar: APD

Astrosit disfonksiyonu amyotrofik lateral skleroz: ALS

Atipik Antipsikotik ilaçlar: ATAP

Avrupa Tip Kültürü Koleksiyonu: ATCC

Beyin glioma hücre hattı: CRL-2199

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör: BDNF

Dimetil sülfoksit: DMSO

Dulbecco 'nun modifiye edilmiş Eagle medyum ve besleyici F12 ham medyum: DMEM-F12

Fetal sıgır serumu: FCS

Fosfat buffer solüsyon: PBS

Fosfolipaz C- gamma: PLC γ

Fosfatidilinositol-3 kinaz: PI3K

Gıda ve İlaç Dairesi: FDA

Glial fibriler asidik protein: GFAP

Glial hücre hattı-kökenli nörotrofik faktör: GDNF

Hücre dışı sinyal-düzenleyici protein kinaz: ERK

Kalsiyum ve magnezyum içermeyen fosfat tamponu: CMF-PBS

Lizozom ilişkili membran proteini 1: LAMP1

Merkezi sinir sistemi: MSS

Mikroveziküller: MV

Multiveziküller cisimcikler: MVB

Nar benzeri yapılar: PLS

Normal sıçan böbrek: NRK

Nörotrofin-3: NT-3

Nörotrofin-4: NT-4

P75 nörotrofin reseptör: P75NTR

Siklik adenosin monofosfat: Camp

Sinir büyüme faktörü: NGF

Tetraspanin-4: TSPAN-4

Tipik Antipsikotik ilaçlar: TAP

Transforming growth factor β 1: TGF- β 1

Tropomiyozin reseptör kinaz B: TrkB

Yanıt element bağlayıcı protein: CREB

Yeşil floresan protein: GFP



ÖZET

Doğan S. Glioma Hücrelerinde Antipsikotik İlaçlar ve Adinopokinetik Hormonun Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji ABD. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2020.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2019-34745.

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), hem sağlıkta hem de hastalıkta bilişsel ve hafıza için sinapslar üzerindeki nöron ve glia gelişimi, nöron sağlığı, plastisite ve sinapslar üzerinde uzun süreli etkilerde anahtar bir moleküldür. Depresyonda BDNF seviyeleri düşer ve antidepresanlar uygulanarak normalleştirilir.

Adipokinetik hormon (AKH) ailesi, böceklerde yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasını kontrol eder. AKH'ler antidepresan, anksiyolitik ve analjezik etkilere sahiptir. AKH'ler, nöropsikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklar gibi bozuklukların tedavisinde yeni bir yaklaşım olabilir. Çalışmamızda, AKH'nin BDNF üzerindeki etkilerini değerlendirdik.

Hücre kültüründe C6 glioma hücrelerine 24 saat, klozapin (5 μ M / L) ve haloperidol (10 μ M / L) antipsikotik ilaçlar ve Anax imperator AKH (AniAKH) (5, 10 ve 50 μ g / mL) uygulandı. İmmünohistokimya boyama ile BDNF ekspresyonlarını ve transmisyon elektron mikroskobu ile C6 glioma hücrelerinin ince yapısını inceledik. Tüm grupların C6 glioma hücrelerinde, hücre morfolojisi, nükleusları, sitoplazmik organelleri, otofajik hücre dejenerasyonu ve apoptotik ölüm gibi ultrastrüktürel değişiklikler karşılaştırıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Ani-AKH gruplarının BDNF boyama yoğunluğu anlamlı olarak artarken, klozapin ve haloperidol gruplarında daha düşüktü. 5 ve 10 μ g / mL Ani-AKH gruplarında otofajik hücre dejenerasyonu ve apoptotik ölüm gibi morfolojik değişiklikler azalırken, klozapin ve haloperidol gruplarında kontrol grubuna göre artmıştır.

Sonuçlarımız, Ani-AKH 'nin nöropsikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde BDNF'nin artması ve ultrastrüktürel değişikliklerin iyileştirilmesi için olası bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, AKH tiplerinin terapötik kullanımı, deneysel araştırma ve klinik deneylerin olmaması nedeniyle önemli ölçüde sınırlıdır; bu nedenle daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör, antipsikotik ilaç, adipokinetik hormon, C6 glioma hücre hattı.

ABSTRACT

Doğan S. Investigation of the Effects of Antipsychotic Drugs and Adipokinetic Hormone on Brain Derived Neurotrophic Factor in Glioma Cells. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Histology and Embryology. İstanbul. 2006. This work was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of İstanbul University Project Number: TYL-2019-34745.

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is a key molecule in neural and glial development, neuroprotection, plasticity and long-lasting effects on synapses for cognition and memory in both health and disease. BDNF levels are reduced in depression and normalized by administration of antidepressants.

The adipokinetic hormone (AKH) family of peptides controls fat, carbohydrate and protein metabolism in insects. AKHs possess antidepressant, anxiolytic, and analgesic effects. AKHs might be a new approach to treating neurodegenerative and depressive disorders. In this study, we evaluated effects of the AKH on the BDNF.

The C6 glioma cells were cultured with the clozapine (5 μ M/L) and haloperidol (10 μ M/L) antipsychotic drugs and Anax imperator AKH (AniAKH) (5, 10 and 50 μ g/mL) for 24 h. We detected BDNF expressions and ultrastructure of C6 cells by immunocytochemistry staining and transmission electron microscope in the C6 glioma cells. In the C6 glioma cells of the all groups compared ultrastructural alterations of such as the cell morphology, nuclei, cytoplasmic organelles, the autophagic cell degeneration and apoptotic death.

As compared with the control group, the BDNF staining density of Ani-AKH groups had significantly increased, while had lower in the clozapine and haloperidol groups. In the 5 and 10 μ g/mL Ani-AKH groups, morphological changes such as the autophagic cell degeneration and apoptotic death were decreased while they were increased in the clozapine and haloperidol groups than the control group.

Our results revealed that Ani-AKH may be used as a possible therapeutic agent for increase of BDNF and improvement of the ultrastructural changes in the treatment of neuropsychiatric and neurodegenerative diseases. However, the therapeutic use of AKH types is significantly limited by the lack of experimental research, and clinical trials; thus further studies are needed.

Key Words: Brain-derived neurotrophic factor, antipsychotic drug, adipokinetic hormone, C6 glioma cell line.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), nörotrofin ailesinin bir üyesi olup merkezi ve periferik sinir sisteminde nöronların yaşamasında, büyümesinde ve fonksiyonlarında görev alır (1, 2). İlk çalışmalarda BDNF'nin nöronlarla ilişkili olduğu belirlenmiş olmasına rağmen, sonraki çalışmalarda, ependim hücrelerinden, mikroglialardan, serebral arteriollerin endotel hücrelerinden, astrositlerden (3), trombositlerden (4), lökositlerden, monositlerden, T ve B lenfositlerinden de sentezlendiği belirlenmiştir (5, 6). Başlıca fonksiyonu nöronlarının yaşamasını sağlamak olan BDNF, dendritlerin büyümesinde ve sinaptik plastisitede de rol almaktadır (7, 8).

BDNF' nin sentezindeki yetersizliğin ya da bozukluğun, insanların ve hayvanların nörolojik ve nörodejeneratif hastalıklara yatkınlığını arttırdığına ve bu nedenle nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğine dair bilimsel çalışmalar bulunmaktadır (1, 9-11). Depresyonun şiddeti ile BDNF düzeyleri arasında negatif bir korelasyonun olduğu saptanmıştır (12). Deneysel stres modelinde BDNF uygulamasının, monoaminerjik sistemlerin aktivasyonuna aracılık ederek antidepresan benzeri etki gösterdiği saptanmıştır (13). BDNF'nin psikiyatrik bozukluklarda da rol oynadığı bildirilmiştir (14). BDNF'nin nörolojik, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğine dair pek çok bilimsel veri mevcuttur (14) (15). Son yıllarda, nörodejeneratif hastalıklarda ve nörolojik bozukluklarda BDNF' nin rol oynadığını gösteren çalışmalar, bu hastalıklar için yeni bir belirteç ve tedavi edici ajan olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir(16).

Birinci kuşak ve ikinci kuşak antipsikotik ilaçlar, şizofrenide, diğer psikiyatrik hastalıklarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte özellikle 2. kuşak antipsikotik ilaçların yan etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Antipsikotik ilaçlar, beyinde nörotropik faktörlerin ekspresyonunu da etkiler (1) (16) (17) (18).

Böceklerin endokrin bir bezi corpus cardiacum'undaki nörosekretuar hücreler adipokinetik olarak adlandırılan bir dizi nörohormonu sentezler. Nörohormonlar özellikle böceklerin oksidatif metabolizmasına ihtiyaç duyulduğunda artarlar. Adipokinetik hormonlar (AKHs) 'ın, karbonhidrat ve yağların mobilizasyonu ile enerji metabolizması ve motor nöronlar üzerine eksitator etkileri vardır. Adipokinetik

hormonlar beyinde de gözlenmesine rağmen roller tam olarak bilinmemektedir. Adipokinetik hormonların psikiyatrik hastalıklar, depresyon, anksiyete, stres bozuklukları, ağrı ve lokomotor bozukluklar gibi çeşitli hastalıklarda kullanılabileceğine dair çalışmalar yapılmaktadır (10, 19) (20). Çalışmamızda C6 glioma hücre hattında 1. kuşak antipsikotik, 2. kuşak antipsikotik ilaçlarının ve anax imperator adipokinetik hormon (Ani-AKH) 'un BDNF sentezi ve ultrastrüktürü üzerine etkilerinin immünohistokimyasal boyama ve elektron mikroskopuyla incelenmesi amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. C6 GLİOMA HÜCRE HATTI

Sıçan glioma hücre hattı C6, kimyasal olarak indüklenmiş bir sıçan beyin tümöründen elde edilen, farklılaşmamış astrosit hücre tipi olarak sınıflandırılır (21). Astrositler beyindeki temel glia hücrelerindendir ve nöron mikroçevresinin devamlılığında ve metabolik destek olarak, kan beyin bariyerinin işlevinde ve sinaptik aktivitede önemli fizyolojik rollere sahip olduğu bilinmektedir (22-25). Astrosit disfonksiyonu amiotrofik lateral skleroz (ALS), Alzheimer ve Parkinson nörodejeneratif hastalıkları ve epilepsi ile ilgilidir (26-30).

C6 glioma hücre hattı, glial hücre özelliklerinin incelenmesi için in vitroda model olarak kullanılmaktadır. Flavonoidler ve diarilheptanoidler gibi çeşitli bitki bileşiklerinin, astrosit hücreleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla C6 glioma hücre hattı astrosit hücre modeli olarak kullanılmaktadır (31, 32). Parkinson hastalığı modelinde in vitroda 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) veya manganese (Mn²⁺) ile indüklenen C6 glioma hücre hattı kullanılmaktadır (33-36). Beyin iskemi modelinde in vitroda glia skar dokusu oluşumu için transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) ile indüklenen C6 glioma hücre hattı kullanılmaktadır (37). Alzheimer ve Parkinson ve amiotrofik lateral skleroz gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda önemli rol oynayan oksidatif stress modelinde hidrojen peroksit (H₂O₂) 'e maruz bırakılan C6 glioma hücre hattı kullanılmaktadır (32). Bu nedenle, C6 glioma hücre hattı, in vitroda deneysel glioma modeli olarak tümör büyümesi, kan-beyin bariyeri, anjiyogenez mekanizmaları ve anti-kanser tedavilerinin araştırılması yanında birçok astrosit ilişkili hücre kültürü araştırmalarında astrosit hücre modeli olarak kullanılmaktadır.

2.2. C6 GLİOMA HÜCRE HATTINDA APOPTOZ VE OTOFAJİ

Apoptozis çevresindeki alana madde salgılamadan ortamdan hücrelerin kaldırılmasını sağlayan programlı bir ölüm şeklidir. Apoptozis embriyonik gelişimde, yaşlı ve hastalıklı hücrelerin ortadan kaldırılmasında rol oynar. Apoptoziste hücre ölümünün son aşamasına kadar hücre membranının bütünlüğü korunur, membranlar daralır ve hücre hacmi azalır. Hücresel ve nükleer fragmentasyona uğrar ve parçacıklara ayrılarak apoptotik cisimler oluşur (38).

Otofaji ise lizozomlar aracılığıyla proteinler ve organellerin yıkımına yol açan katabolik olaylardır. Otofaji lizozomal bir bozulma yoludur. Otofaji hücre büyümesini, metabolizmasını ve devamlılığını sağlar. Hücresel biyoenerjiyi ve sitoplazmik kaliteyi kontrol eder. Otofaji, endoplazmik retikulum (ER) stresi, besin veya büyüme faktörlerinin yoksunluğu, hipoksi, sitotoksiste ve enfeksiyon gibi çeşitli hücresel stres şekilleriyle düzenlenir. Otofaji hipoksi, metabolik, osmotik ve oksidatif stress ve patojen enfeksiyonlarında artar. Otofaji, DNA fragmentasyonu ve tomurcuklanması olmadan sınırlı kromatin kondensasyonu gösteren, otofajik veziküller ve artan lizozom aktivitesi gösteren karakteristik özelliklere sahiptir. Apoptozis tip-1 programlı hücre ölümü, otofaji ise tip-II programlı hücre ölümü olarak bilinir (39).

Otofajik kapasitenin azalmasıyla ilişkili olarak astrosit tümörlerinin ilerlemesi nedeniyle, otofaji gliomada tümör baskılayıcı olarak etki gösterir, Otofaji hem tümör baskılayıcı ve hem de tümörojenik etki gösterebilir, otofaji artarsa apoptozis azalır. Bu etki mekanizması tümör hücrelerinin apoptozisten kaçarak yaşamasını sağlar (40). Otofajide, otofagozom olarak adlandırılan çift membranlı veziküller, lizozomlarla füzyona uğrayarak otolizozomları oluştururlar (41). Lizozomal enzimler, endoplazmik retikulum, golgi aygıtı ve mitokondrium gibi organelleri de içeren sitoplazmik içeriği sitoplazmik içeriği parçalar (42).

2.3. APOPTOZA GİDEN C6 GLİOMA HÜCRE HATTI TİPLERİ

Hücre kültüründe, stostatik bir ilaç uygulanan C6 glioma hücreleri apoptozise giden çeşitli hücre tipleri içerirler (Şekil 2.3.1). Hücre kültüründe, C6 glioma hücrelerinin yaklaşık % 91 'i, 2 veya 3 nukleolusa sahip oval veya yuvarlak şekilli rastgele yerleşmiş nükleus içerirler. Hücreler aktif gen transkripsiyonunun belirtisi olarak, nükleolusları belirgin olan düzgün dağılan düşük yoğunluklu ökromatik nükleuslara sahiptir. Bazı hücrelerin nükleusları girintiler gösterirler. C6 glioma hücreleri tübüler ve oval şekilli mitokondriyumlara, belirgin golgi kompleksine, sentriol ve mikrotübüllere sahip hücrelerdir. Bu hücreler tip 0 (T-0) hücreleri olarak sınıflandırılırlar.

C6 glioma hücrelerinin yaklaşık % 7 'si, mitoz gösterir. Geriye kalan C6 glioma hücrelerinin yaklaşık % 2 'si, eşit dağılım gösteren ince kromatin yapısına sahip lobüllü bir nükleus yapısı gösterir (43).

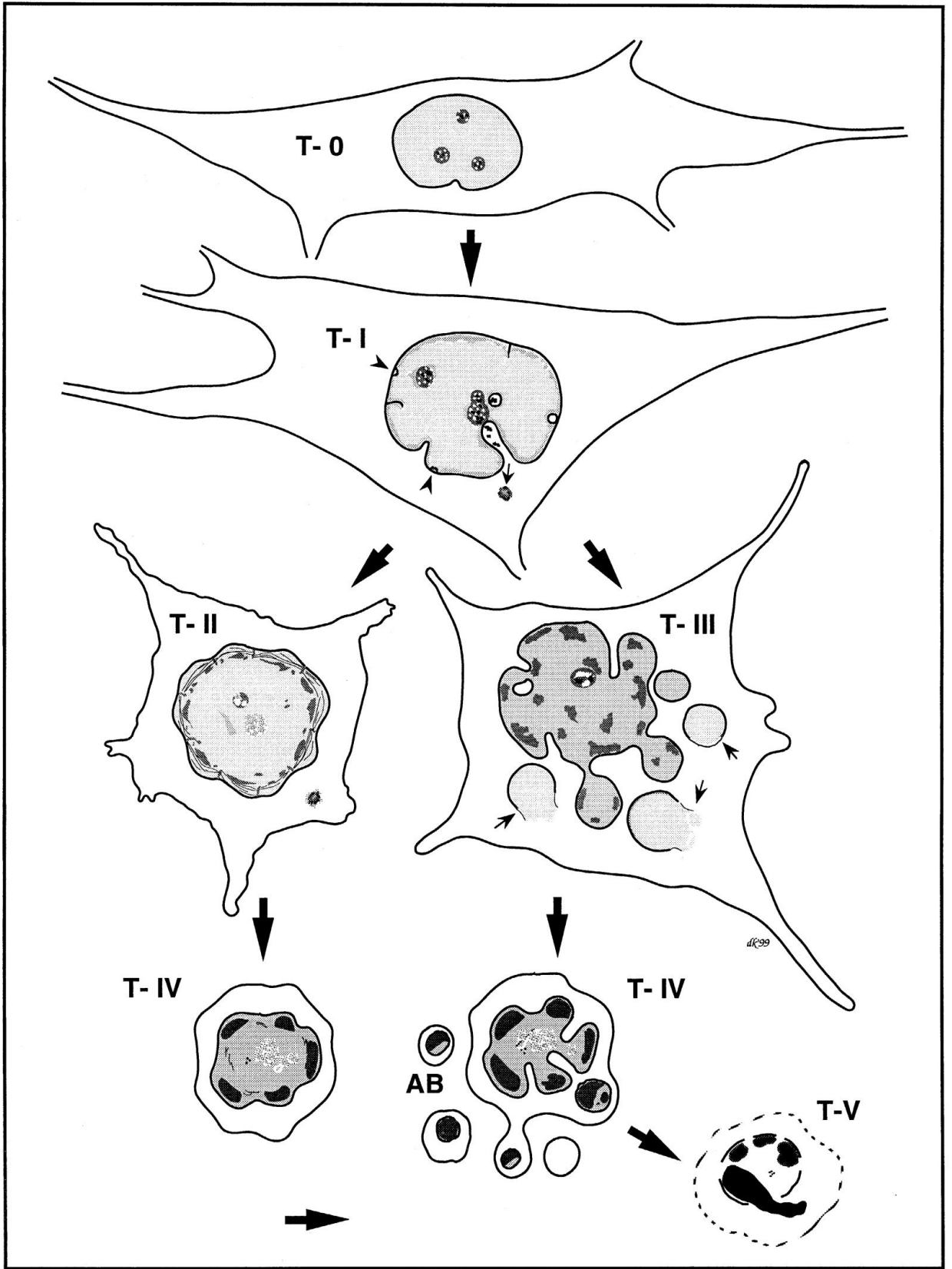
Hücre kültüründe ilk 24 saatte, tip 2 (T-II) C6 glioma hücreleri görülür. Nispeten küçük ve soluk nükleuslara sahiptirler. Kromatin, nükleusun periferinde düzensiz yoğun kümeler oluşturur. T-II hücreleri, granüler ve fibriler kısımları kolayca ayrılabilen küçük bir nukleolusa sahiptirler. T-II hücrelerinin sitoplazmasında otofagozomların büyüklüğü ve sayısı artar. T-II hücreleri 24-48 saatte sayıları en yüksek düzeye ulaşır (%3.7) ve sonraki 72-96 saatte sayıları azalır (% 0.7).

Tip III (T-III) hücreleri derin ve büyük girintiler içeren ve değişik boyutlarda birkaç loba bölünen nükleusa sahip en büyük hücre tipidir. Hücrelerin kromatini orta yoğunlukta ve küçüktür. T-III hücrelerinin sitoplazmasında otofagozomların büyüklüğü ve sayısı fazladır. T-III hücreleri, 24 ve 72 saat arasında sayıca en yüksek düzeye ulaşır (% 4.7 ve % 6.6).

Tip IV (T-IV) hücreleri, önceki hücre tiplerinden nispeten daha küçük birkaç sitoplazmik tomurcuklanma hariç çıkıntısızdır. Hücreler düzensiz bir yüzeye veya lobüllere ayrılmış ve yoğun kromatin yığınları içeren fragmente (apoptotik cisimler) bir nükleusa sahiptir. T-IV hücreleri, birçok periferel çıkıntılar ve tomurcuklanmalar içerdiğinden şekilsizdir. T-4 hücreleri lipid damlacıkları ve büyük vakuoller içerirler. T-IV hücrelerinin sitoplazması yoğun olmasına rağmen mitokondriyum, ribozomlar ve genişlemiş endoplazmik retikulum sisternaları ayırt edilebilir. T-IV hücreleri, 48-72 saatte tüm hücre tipleri içinde en az sıklıkta (%2.4-4.8) görülen hücrelerdir.

Tip V (T-V) hücreleri, en küçük boyutlu plazma membranı tamamen yok olmuş veya fragmente olmuş hücrelerdir. T-V hücreleri, küçük soluk bir merkeze sahip çok yoğun kromatinli hilal veya yuvarlağımsı nükleus kalıntıları içerirler. T-V hücreleri, kristallarını kaybetmiş şişmiş mitokondriyumlar içerirler ve hiçbir organel ayırt edilemez. T-V hücrelerinde, plazma membranı devamsızdır veya hiç bulunmaz. T-V hücreleri, sıklıkla hipertrofik T-I hücrelerinin yüzeyine komşudur veya onlar tarafından fagosite edilirler. T-V hücreler, 24 saate kadar çok nadir görülür (% 0.1-0.2), 48 saate kadar sayıları artar ve 96 saate sayıları en yüksek düzeye ulaşır (43).

Sıçan C6 glioma hücre hattı, glial fibriler asidik protein (GFAP) ve vimentin ara filaman proteinlerini ekspresse ettiği görülmüştür (44). GFAP ara filamanı, C6 hücre hattını, farklılaşmamış astrositik hücre tipi olarak sınıflandırmak için kullanılan temel bir kriterdir (45, 46).



Şekil 2.3.1. Apoptoza giden C6 glioma hücre tipleri. T-I 'de nukles por cap (okbaşı), sitoplazmada nukleolus benzeri cisim (kısa ok). T-III 'de, kesintili nuklear kılıf (nuclear envelope) (kısa oklar) (43). T-IV 'de apoptotik cisimler (AB) (43).

2.4. NÖROTROFİNLER

Nörotrofinler, nöron yaşaması, gelişimi, fonksiyonu ve plastisitenin önemli düzenleyicileridir. Memelilerde tanımlanan dört nörotrofin vardır. Sinir büyüme faktörü (NGF), beyinden kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nörotrofin-3 (NT-3) ve nörotrofin-4 (NT-4) ortak bir genden üretilir, yapısal bakımından benzerdirler ve bu nedenle toplu olarak nörotrofinler olarak adlandırılırlar.

Periferik ve merkezi sinir sisteminde nörotrofinler, nöronların yaşaması, farklılaşması ve onarımı için önemli düzenleyicilerdir. Sinir hücrelerinin hayatta kalmasına yardımcı olmak için sinir sistemine salgılanan küçük proteinlerdir. Nörotrofinlere bağlanabilen iki farklı reseptör sınıfı vardır. Bu iki protein, tüm nörotrofinlere bağlanan p75 (NTR) ve sadece bazı nörotrofinler için spesifik olan Trk alt tipleridir. Trk reseptörleri aracılığıyla nörotrofinler tarafından aktive edilen sinyal yolları, hücrenin hayatta kalması, farklılaşma, dendritik arborizasyon, sinaps oluşumu, plastisite, aksonal büyüme ve aksonal rehberlik gibi birçok nöronal fonksiyonla sonuçlanır. P75NTR reseptörüne ait işlevler çeşitli ve kompleksdir. Reseptör p75NTR, hem hayatta kalmayı teşvik etmede hem de apoptozu indüklemeye, nörit büyümesinde ve büyüme konisi çöküşünü kolaylaştırmada ve farklılaşmaya ve proliferasyona aracılık etmede rol oynamaktadır (47-49).

Nörotrofin sentezindeki yetersizliğin nörolojik, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklara duyarlılık artışı ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir. Son yıllarda, nörotrofinlerin, nörolojik, psikiyatrik ve nörodejeneratif tedavi edici etkileri araştırılmaktadır (50-54).

2.4.1. BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), merkezi sinir sistemindeki (CNS) dopaminerjik, kolinerjik ve serotonerjik nöronların sağkalımı ve plastisitesine katılan proteinlerdendir (50, 54, 55).

BDNF'nin nörolojik, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğine dair pek çok bilimsel veri mevcuttur. Son yıllarda, nörodejeneratif hastalıklarda ve nörolojik bozukluklarda, BDNF'nin rol oynadığını gösteren çalışmalar, bu hastalıklar için yeni bir belirteç ve tedavi edici faktör olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir (50-54).

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, epilepsi iske mi, depresyon ve kronik ağrı gibi çeşitli merkezi sinir sistemi bozukluklarının oluşmasıyla ilişkilidir (31).

Başlıca fonksiyonu nöronlarının yaşamasını sağlamak olan BDNF, dendritlerin büyümesinde ve sinaptik plastisitede rol almaktadır (8, 56). Nöronların sağkalımının desteklemesi ve fonksiyonlarını etkilemesinden dolayı nörodejeneratif hastalıkların tedavi edilmesinde, BDNF uygulamaları önem ve hız kazanmıştır (9, 16).

BDNF ekspresyonu fizyolojik olaylarda ve patolojik durumlarda değişmektedir. BDNF, merkezi sinir sisteminde nöronların gelişmelerine ve kendilerini yenilemelerine yardımcı olurken, önemli sinir yollarının yapısal olarak sağlıklı olmalarına ve görevlerini sürdürmelerine de katkıda bulunur (16, 57).

BDNF'in sentezindeki yetersizliğin ya da bozukluğun insanların ve hayvanların nörolojik ve nörodejeneratif hastalıklarına yatkınlığını arttırdığına ve nörodejeneratif ve psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğine dair bilimsel çalışmalar bulunmaktadır (1, 10, 11).

BDNF 'nin insan vücudunda 2 tipi vardır: Pro ve mature BDNF (58, 59). BDNF'nin yüksek affiniteli reseptörü olan tropomiyozin reseptör kinaz B (TrkB), düşük affiniteli reseptörü ise p75 nörotrofin reseptör (p75NTR) 'dür. ProBDNF 'nin p75NTR'ye bağlanması nöron apoptozisini teşvik eder (60-62). BDNF, nöron yaşamasında olduğu kadar gelişim sırasında, periferik sinir sisteminde p75NTR reseptörü aracılığı ile sempatik nöronların apoptozisinde de rol oynar (47).

BDNF, TrkB reseptörüne bağlandıktan sonra fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K), fosfolipaz C- gamma (PLC γ) ve hücre dışı sinyal-düzenleyici protein kinaz (ERK), gibi yolları aktive eder (63-66). Presinaptik alandaki BDNF reseptörlerine bağlandıktan sonra hücre içine alınıp akson veya dendritdeki dynein taşıyıcı proteinleri aracılığıyla retrograde olarak nöron gövdesine doğru taşınır (67, 68).

BDNF'nin presinaptik nörotransmitter salınımını artırdığı ve sinaptik yapılanmayı hızlandırdığı, TrkB aracılığı ile dopamin salınımını düzenlediği rapor edilmiştir (69-71).— Sinaptik transmisyon ve hücre sel uyarılabilirliği etkileyerek davranış ve öğrenme ile ilgili fonksiyonları ve belleği etkileyen sinaptik değişiklikleri etkilemektedir (52, 72). Psikiyatrik bozukluklarda BDNF psikiyatrik bozuklukların etyolojisinde nörotrofik büyüme faktörlerinin rol oynadığı bildirilmiştir. Özellikle BDNF'nin psikiyatrik bozukluklarda rolü olduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır.

Duygudurum bozukluklarının patofizyolojisinde, MSS ve periferik sinir sistemi BDNF düzeyinin rol oynadığı bildirilmiştir (73, 74). Depresyonun şiddeti ile BDNF düzeyleri arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır (73, 75). Major depresyonun düşük serum BDNF konsantrasyonu ile karakterize olması duygudurum bozukluklarında BDNF'nin rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (75). Depreyon hastalarında azalmış olan BDNF düzeylerinin antidepresan tedavisi ile arttığını belirlemişlerdir (76, 77). Öldüğünde antidepresan ilaç kullananların hipokampuslarının dentat girusunda, hilar bölgesinde ve supragranular bölgesinde BDNF ekspresyonunun antidepresan kullanmayanlarınkine göre arttığı rapor edilmiştir (78-80). BDNF'nin Tedavi Amaçlı Kullanımı BDNF'nin nörolojik, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde kullanılabileceğine dair pek çok bilimsel veri mevcuttur (9, 53, 54, 71, 74, 81). BDNF'nin antidepresan etkisi bulunmaktadır (55, 74). Deneysel stres modelinde BDNF uygulamasının, monoaminerjik sistemlerin aktivasyonuna aracılık ederek antidepresan benzeri etki gösterdiği saptanmıştır (82-85).

Depresyonun davranış modelinde hipokampusa BDNF infüzyonunun, öğrenilmiş çaresizliğe ve zorla yüzme testine olası etkilerinin incelendiği bir araştırmanın sonuçları, BDNF'nin antidepresan tedavisine katkı yapabileceğini göstermektedir (86-89).

Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, amiotrofik lateral skleroz ve Huntington hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklar ve nörolojik bozukluklar önemli ve büyüyen bir sorun haline gelmiştir (81, 90-92). Nörodejeneratif hastalıkların tanısı ile ilişkili moleküler düzensizliklerin tanımlanması, bu hastalıklarda erken, doğru ve ayırıcı tanı için patolojik mekanizmalarının aydınlatılması ve keşfi için önemli bilgiler sağlayabilir. Son yıllarda, nörodejeneratif hastalıklarda ve nörolojik bozukluklarda BDNF'nin rol oynadığını gösteren çalışmalar, bu hastalıklar için yeni bir belirteç ve tedavi edici olarak kullanılabileceğine işaret etmektedir (81, 93, 94).

2.5. ANTİPSİKOTİK İLAÇLAR

Antipsikotik ilaçlar ya da bir diğer adıyla nöroleptik ilaçlar, psikozları yani hezeyan, sanrı, düşünce bozuklukları ve paranoya gibi semptomlar gösteren şizofreni ve diğer psikiyatrik hastalıkları tedavi amaçlı kullanılan ilaçlardır (95, 96). Antipsikotik ilaçlar, beyinde mezolimbik sistemden fazla dopamin salınımına engel olarak, psikotik bulguların ortaya çıkmasını önlerler (97, 98).

Antipsikotik ilaçlar (APD, nöroleptik) tipik (TAP, ilk, birinci, eski, klasik nesil veya kuşak) ve ikinci nesil (ATAP, atipik, ilk veya yeni kuşak) olmak üzere iki gruba ayrılır. İlk antipsikotik ilaç olan klorpromazin ilk olarak 1950 'de bulundu, ancak antipsikotik etkileri olduğu daha sonra keşfedildi. Başlangıçta klorpromazin ve benzeri ilaçlar nöroleptik belirtileri nedeniyle 'nöroleptik' olarak adlandırıldı. Bu nedenle ilk atipik antipsikotik ilaç olan klozapin nöroleptik belirtiler göstermediği için antipsikotik olarak değerlendirilmedi. Bu yüzden de klorpromazin ve benzeri antipsikotik ilaçlar tipik daha sonra bulunan klozapin ve diğer ilaçlar ise atipik olarak adlandırıldı (99-101).

1960'da klozapinin kullanımının başlamasıyla, 'antipsikotik' terimi kullanılmaya başladı. Fakat, 1974'de klozapinin yan etkilerinden agranülositoz nedeniyle hastaların ölmesi sonucu, atipik antipsikotik ilaç kullanımı bırakıldı. Fakat daha sonra, tipik antipsikotik ilaçların etkili bir tedavi gösterememesine ek olarak çok sayıda yan etkileri de eklenince, 1980 'de tekrar klozapin kullanılmaya başladı. Atipik antipsikotik ilaçlar, hastalarda nöroleptik belirtiler göstermediğinde yerini antipsikotik terimine bırakmıştır (101, 102).

Tipik antipsikotik ilaçların beyindeki dopamin D2 reseptörleri için yüksek afinite (ilgi) 'ye sahip olduğu bilinmektedir. Atipik antipsikotik ilaçlar ise, TAP 'lara göre D2 reseptörleri için daha düşük ve 5-HT_{2A} reseptörleri için daha yüksek bir afiniteye sahiptir (103, 104).

Antipsikotik ilaçların olası yan etkilerinden, uyku hali, obezite, baş dönmesi, ağız kuruluğu, prolaktin hormon artışı ve daha çok birinci nesil antipsikotiklerde görülen titreme ve kramp tarzında hareket bozukluklarıyla kendini gösteren ekstrapiramidal yan etkiler, hastaların ilaçlara devam etmemesine neden olabilmektedir (105, 106).

Birinci kuşak ve ikinci kuşak antipsikotik ilaçlar, şizofrenide, diğer psikolojik hastalıklarda yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte özellikle 2. kuşak antipsikotik ilaçların yan etkileri ve etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Antipsikotik ilaçlar, beyinde nörotropik faktörlerin ekspresyonunu da etkiler (107, 108). Şizofreni tedavisi için normalde atipik antipsikotik ilaçlar kullanılmaktadır, ancak diğer psikiyatrik bozukluklar ve Alzheimer hastalığı gibi nörodejeneratif hastalıklarda da tedavideki faydaları nedeniyle araştırılmaktadırlar (109). Sinir büyüme faktörü (NGF), BDNF ve glial hücre hattı-kökenli nörotrofik faktör (GDNF), nörodejeneratif ve depresif bozuklukların tedavisinde yeni bir yaklaşım olabileceğinden nörotrofik faktörlerin sentezini ve salgılanmasını hedefleyen çalışmalar yapılmaktadır (109-112).

Bu farklılıklar şizofreni hastaları üzerindeki tipik ve atipik APD 'lerin, farklı terapötik etkilerini ve yan etki profillerini anlamamıza yardımcı olsa da, bu konuda hala öğrenecek çok şey bulunmaktadır (103, 104, 113). Astrositler de, dopamin reseptörlerini eksprese eder ve dopamin stimülasyonuna yanıt verir. Bununla birlikte, astrositlerin, psikiyatrik bozukluklardaki rolü ve antipsikotiklerin astroglial hücreler üzerindeki etkileri tam olarak bilinmemektedir (114).

2.5.1. TİPİK ANTİPSİKOTİKLER

Tipik antipsikotiklerin tek ortak etki mekanizması, dopamin D2 reseptörlerine karşı yüksek afinite ve antagonist özellik göstermeleridir. Tipik antipsikotikler ilk olarak postsinaptik uçta dopamin reseptörlerini bloke eder ve daha sonra presinaptik uçta dopamin salgılanması baskılanır. Tipik antipsikotikler, arasında fenotiyazinler (trifluoperazin, perfenazin, proklorperazin, asetofenazin, triflupromazin, mesoridazin), butirofenonlar (haloperidol), tiyoksantenler (tiyotiksen, klorprothixene), dibenzoksazepinler (loksapin), dihidroindon, dibenzoksazepinler (loksapin), dihidroindon) bulunur (97, 115-118). Haloperidol dünya çapında çok yüksek pazar payıyla en sık kullanılan antipsikotik ilaçlardan biridir (18, 119-121).

Tipik antipsikotiklerin, beyinde limbik sistemdeki D2 reseptörlerini bloke etmeleri prolaktin artışına, striatumda bloke etmeleri ise ekstrapiramidal yan etkilere yol açmaktadır (122, 123). Tipik antipsikotikler beyinde striatumda nöronları ve limbik nöronları bloke etmektedirler (124).

Tipik antipsikotikler, pozitif semptomlara etkili, negatif semptomlara etkisizdir, hatta atırtıcı etkileri vardır (125). Konfüzyon, sedasyon ve deliryuma neden olarak bilişsel fonksiyonları bozarlar (126, 127). Bellek bozukluklarına neden olurlar (128, 129). Nörolojik olarak distoni, akatizi, diskinezi ve akinezi gibi akut hareket bozukluklarına; geç diskinezi ve distoni gibi geç başlangıçlı hareket bozukluklarına neden olurlar (130, 131). Prolaktin normalde dopamin tarafından inhibe edilir. Bu yüzden antipsikotikler D2 reseptörüne antagonist etkileri nedeniyle, prolaktin artışına neden olurlar. Prolaktini arttırmaları nedeniyle kadınlarda amenore; erkeklerde ise jinekomasti ve empotansa neden olurlar (132, 133). Obezite, hiperglisemi, diyabet ve hiperlipidemiye neden olurlar (134, 135). Parkinson belirtileri tipik antipsikotiklerden haloperidol 'ün oluşturduğu yan etkilerdir (136, 137). Haloperidol, hem striatal sistem hem de limbik sistemdeki hücrelerin sayısında bir azalmaya neden olur (138, 139).

2.5.2. ATİPİK ANTİPSİKOTİKLER

Atipik antipsikotiklerin de etkilerini açıklayan tek bir mekanizma bulunmamaktadır. Atipik antipsikotikler, serotonin-dopamin antagonistleridir. Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) 2016 yılı itibariyle 12 atipik antipsikotik onaylamıştır. Bunlar risperidon, olanzapin, ketiyapin, ziprasidon, aripiprazol, paliperidon, asenapin, lurasidon, iloperidon, kariprazin, brexpiprazol ve klozapindir (115, 140).

Atipik antipsikotik ilaçlar, beynin sadece limbik bölgesindeki nöronlardaki D2 reseptörlerini bloke etmektedir. Atipik antipsikotik ilaçlar ek olarak, serotonin 2A (5-HT_{2A}) reseptörlerini de bloke ederler, bu nedenle bu ilaçlara serotonin-dopamin antagonistleri de denir (141, 142).

Klozapin gibi atipik antipsikotikler, tipik antipsikotiklerden farklı olarak hem pozitif hem de negatif belirtiler üzerine etki ederler (143). Atipik antipsikotikler, depresyon, anksiyete, hostilite ve agresyon gibi duygu durum semptomları ve bilişsel semptomlar üzerine tipik antipsikotiklere göre daha etkilidirler (144). Obezite, dislipidemi ve diyabet gibi metabolik etkileri (135, 145), akut hareket bozuklukları ve epilepsi gibi nörolojik bozukluklara neden olurlar (146). Agranulositoz, ekstrapiramidal belirtiler, prolaktin artışı ve kardiyovasküler bozukluklara sebep olurlar (105, 106, 147, 148). Şizofreni ve diğer hastalıkların tedavisinde kullanılan antipsikotikler, hastaların ciddi psikiyatrik sorunlarının yanına, obezite ve metabolik bozukluklar gibi önemli sağlık sorunlarının eklenmesine yol açabilir (149, 150).

2.6. ADİPOKİNETİK HORMON

Böceklerde nöropeptidler tarafından etkilenen veya düzenlenen çeşitli işlemlerin olduğu bilinmektedir. Bu işlemler metabolik, davranışsal, gelişimsel veya üremeyle ilgili olabilir. Temel nöropeptit gruplarından biri, adipokinetik hormon / kırmızı pigment konsantre edici hormon (AKH / RPCH) ailesine ait olan adipokinetik ve hipertrehalosemik peptitlerdir. Bu peptidler, yağ, karbonhidrat ve protein metabolizmasını kontrol ederler. AKH / RPCH peptidleri, çeşitli böcek modeli sistemlerinde çok çeşitli fizyolojik etkiler gösterirler. Başlıca, vücut yağının metabolik durumuna göre etki gösterirler. Çoğu fizyolojik araştırma, uçuş sırasında çekirgelerde adipokinetik hormonların işlevlerine yoğunlaşmıştır (10, 151-153).

Hormonlar, karbonhidratların ve lipidlerin mobilizasyonu ve / veya substratların uçuş kasları tarafından kullanılması üzerinde doğrudan etkilere sahiptir. Ayrıca, lipidlerin lipoproteinler şeklinde uçuş kaslarına taşınması ve uçuş kaslarındaki lipoprotein lipaz enzim sistemi üzerine etkileri de vardır. Lipoprotein lipaz, lipoproteinlerden diasilgliserolün ayrıştırılmasından ve uçuş kaslarının kasılmalarını güçlendirmek için oksidasyona uygun hale getirilmesinden sorumludur (152, 154, 155). Böceklerin endokrin bir bezi olan corpus cardiacum 'undaki nörosekretuar hücreler, söz konusu böceğe bağlı olarak adipokinetik, hipertrehalosaemik veya hiperprolinaemik olarak adlandırılan bir dizi hormon sentezlerler. Adipokinetik hormonlar, böcek beyniyle bağlantılı nöroendokrin bir bez olan corpus cardiacum 'un nörosekretuar hücreleri tarafından sentezlenir ve depolanır (156, 157). Bu nöropeptitler hormon görevi görür, bu nedenle nörohormonlardır ve özellikle böceklerin oksidatif metabolizması çok yüksek olduğunda gereklidir (155).

Adipokinetik hormonlar metabolik nöropeptidlerdir ve birçok böcekte vücut yağından enerji substratlarının mobilizasyonuna aracılık eder. Nörohormonlar, özellikle böceklerin uçuş aktivitesi sırasında, oksidatif metabolizmasına ihtiyaç duyulduğunda artarlar. Adipokinetik hormonlar (AKHs) 'ın, karbonhidrat ve yağların mobilizasyonu ile enerji metabolizması ve motor nöronlar üzerine eksitator etkileri vardır. Adipokinetik hormonlar beyinde de gözlenmesine rağmen rolleri tam olarak bilinmemektedir (153, 155).

Son yıllarda dAKH geninin transgenik manipölasyonlarını inceleyen çalışmalar, AKH'nin hem hipertrehalosemiyi hem de hiperlipemiyi indüklediğini göstermişlerdir. Birçok nöropeptit gibi, AKH'lerin de birçok fonksiyonu vardır. Örneğin, hamam böceklerinde AKH 'ler kardiyoakselasyona, kabuklularda ise tegumenter ve retinal distal pigmentlerinin göçüne aracılık eder. AKH peptidlerinin motor nöronlar üzerinde de uyarıcı etkileri vardır. Diğer böceklerde yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlar, AKH 'nin harekette önemli rol oynadığını desteklemektedir (152, 155).

Çekirgeler ve hamam böceklerinde biyoanalizler kullanılarak, imparator yusufoçuk (Anax imperator) 'un corpora cardiaca ekstratlarından nöropeptid pGlu-Val-AsnPhe-Ser-Pro-Ser-Trp-NH₂, izole edilmiştir. İmparator yusufoçuğuna enjekte edilen sentetik peptidin düşük konsantrasyonları, hemolenfde lipid konsantrasyonunu arttırmış, bu da peptidin uçuş sırasında lipid homeostazında bir rolü olduğunu düşündürmüştür. Bu

nedenle A. imperator adipokinetik hormon (Ani-AKH) olarak adlandırılmıştır (158, 159).

Son çalışmalarda, fare modelinde A. imperator adipokinetik hormon içeren tedavinin hayvan davranışı üzerinde antidepresan, anksiyolitik, analjezik ve hareket arttırıcı etkileri gösterilmiştir. Ayrıca, adipokinetik hormon tedavisinin BDNF, siklik adenozin monofosfat (cAMP) yanıt element bağlayıcı protein (CREB) gen ekspresyon düzeylerini ve hipokampal nörogenez, arttırıcı ve nörodejenerasyon önleyici etkileri olduğu gösterilmiştir. Farklı tipte adipokinetik hormon ailesi peptitlerinin uygulanması, depresyon, anksiyete, stres bozuklukları, ağrı ve lokomotor bozukluklar gibi çeşitli psikiyatrik hastalıkların tedavisi için kullanılabileceğini göstermiştir (19, 152, 153).

2.7. MİGRAZOMLAR

Hücreler, çeşitli mekanizmalar yoluyla hücrel içeriklerini serbest bırakırlar. Salgı veziküllerinin içeriği, veziküller plazma membranı ile birleştiğinde ekzositoz yoluyla hücrelerden salınır. Ekstraselüler veziküller boyutları, içerikleri, yoğunlukları, biyojenezleri gibi farklı kriterlere göre sınıflandırılırlar. Ekstraselüler veziküllerin eksozomlar, mikroveziküller (MV'ler), apoptotik cisimler ve beyin tümörü hücrelerinde tanımlanan onkozom adı verilen tipleri vardır (160, 161). Son yıllarda migrazom adı verilen ekstraselüler veziküllerin yeni bir tipi tanımlanmıştır, ancak migrazomlarla ilgili bilgi çok azdır (161-165).

Eksozom denilen veziküller, plazma membranı ile multiveziküler cisimciklerin (multivesicular bodies, MVBs) füzyonu ile hücrelerden salınır (161, 166). Migrazomlar ise ekstraselüler membrana bağlı çeşitli küçük veziküller içeren yapılardır. Migrazomlar, multiveziküler cisimciklerin yüzey işaretleyicisi olan LAMP1 'i içermezler (Şekil 2.7.1) (161). Ma L.ve ark. tetraspanin-4'ü (TSPAN4) 'ün bir migrazom belirteci olduğunu bulmuşlardır. TSPAN4-yeşil floresan protein (green fluorescent protein, GFP) taşıyan normal sıçan böbrek (NRK) hücrelerinin floresan görüntülemesiyle, migrazom salınımının migrasyona bağlı olduğunu bulmuşlardır (161, 163).

İlk bakışta, migrasitozun eksozomların salınmasıyla bazı benzerlikleri olabilir. Ancak yakından bakıldığında, bu iki süreç arasında temel farklılıklar olduğu ortaya çıkmaktadır. Eksozomlar, MVB 'lerin plazma membranı ile füzyonu yoluyla hücrelerden salınır. Aksine, migrasitoz, sitoplazmik materyalin migrazomlara

translokasyonunu ve ardından geri çekme liflerini kırarak migrazomların salınmasını içerir. Dolayısıyla, migrasitoz ve eksozom salınımı mekanik olarak farklı süreçlerdir. Eksozomlar üzerindeki çoğu analiz, veziküllerin nerede oluştuğunu araştırmadan, kültür ortamından eksozomları saflaştırarak gerçekleştirilir. Bu nedenle, literatürde daha önce bildirilen eksozomların en azından bir kısmının aslında migrazomlar tarafından serbest bırakılmış olabilir (161).

Hücreler, protein ve vezikülleri salgılayarak ve salarak birbirleriyle iletişim kurarlar. Hücresel içeriğin serbest bırakılması için hücre göçüne bağımlı olan mekanizma migrasitoz ve migrasitoza aracılık eden veziküler yapılar migrazom olarak tanımlanmıştır. Göç eden hücreler hareket ettikçe, arkalarında retraksiyon lifleri (retraction fibers, actin-rich fibers) adı verilen uzun tüp şeklinde lifler bırakırlar. Çok sayıda küçük vezikül içeren büyük veziküller, geri çekme liflerinin uçlarında ve kesişim noktalarında büyürler. Vezikülleri ana hücre gövdesi ile birleştiren bu lifler sonunda yıkılır ve veziküller hücre dışı boşluğa salınır veya doğrudan çevredeki hücreler tarafından alınırlar. Bu veziküllerin oluşumu migrasyona bağlı olduğu için “migrazom” adı verilmiştir. Ayrıca sitosolik içeriklerin migrasomlara taşınabileceğini ve migrasomlar yoluyla hücreden salınabileceği bildirilmiştir. Bu göç bağımlı salım mekanizmasına "migrasitoz" adını verilmiştir (161, 164, 167). Migrazomların hücre-hücre iletişimine ve RNA ve proteinler gibi biyomoleküllerin taşınmasına yardımcı oldukları bildirilmiştir (168).

Migrazomların çoğu oval şekillidir, çapları 0,5 μm ila 3 μm arasındadır ve çok sayıda küçük vezikül içerirler (Şekil 3). Veziküllerin sayısı büyük ölçüde değişiklik gösterir. Bazı yapılar 300 'e kadar vezikül içerirken, çoğu 10 'dan az vezikül içererebilir. Genel olarak bu yapılar açılmış ‘nar’ ‘a benzer. Nar benzeri yapılar (pomegranate-like structures, PLS ‘ler) retraksiyon lifleri (geri çekme lifleri) ‘ne bağlıdır (161, 163).

Migrazomlar, geri çekilme lifleri üzerindeki sabit bölgelerde oluşarak karakteristik bir büyüme modeli gösterirler. Migrazomlar, hızlı bir büyüme aşamasından sonra, maksimum boyutlarına ulaşırlar ve ardından boyut değiştirmeden nispeten istikrarlı bir döneme girerler. Sonunda, geri çekme lifleri dağılır ve migrazomlar ortama bırakılır. Bir migrazomun ortalama ömrü yaklaşık 400 dakikadır (161).

Hücrelerin yüzeyinden çıkan uzun projeksiyonlar ilk olarak 1945 'te transmisyon elektron mikroskobu (TEM) kullanılarak tanımlanmıştır (169). 1963 'te Taylor ve

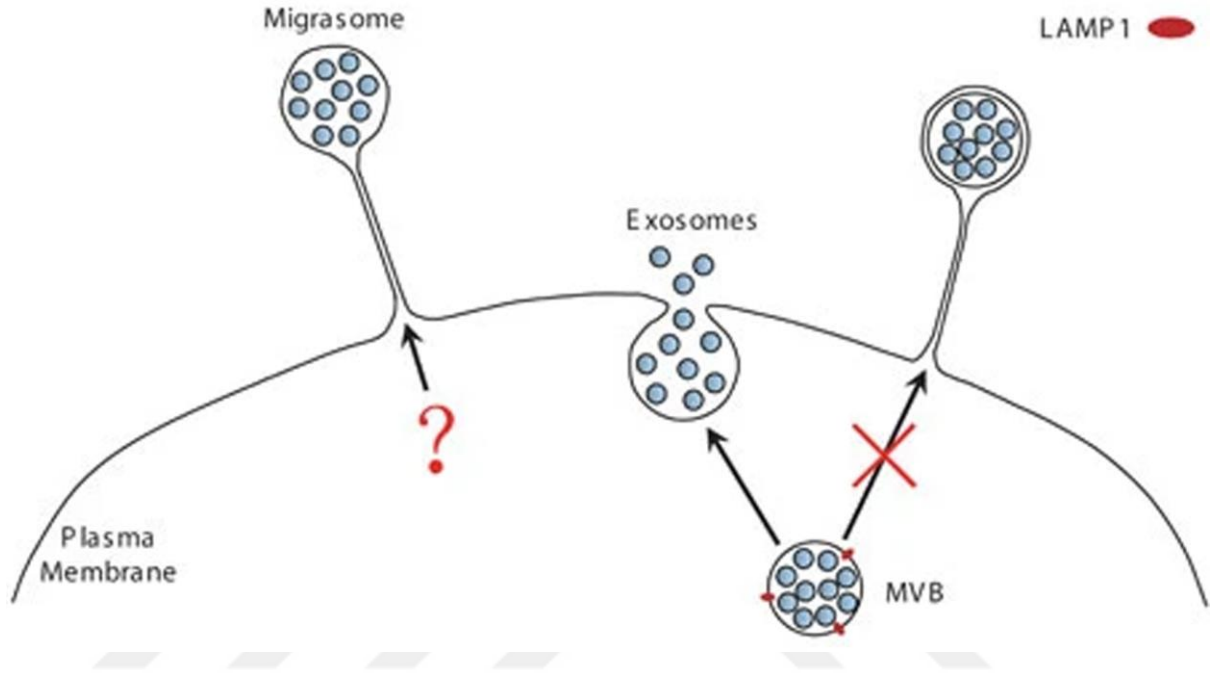
Robbins, substratından geri çekilen göç eden hücrelerde uzun tübüler yapıları görüntüledikleri ayrıntılı bir ışık mikroskobu ve TEM çalışması yaptılar. Daha sonra "geri çekme lifleri" olarak yeniden adlandırılan bu yapılara "geri çekme fibrilleri" adını vermişlerdir (170). Bugüne kadar, makrofaj, böbrek bowman kapsülünü döşeyen epitel hücre hattında (normal rat kidney epithelial cell line, NRK hücre hattı), nöron ve embriyonik kök hücreler gibi farklı hücre tiplerinde yaygın olarak bulunmalarına rağmen, retraksiyon lifleri hakkında da çok az bilgi mevcuttur (161).

Migrasitoz hücresel içerikleri salmak için hücre göçüne bağımlı bir mekanizma olarak bildirilmiştir. Göç sırasında, bir hücrenin arkasında retraksiyon lifleri bıraktığı ve 3 µm 'ye kadar çapa sahip veziküllerin uçlarda veya retraksiyon liflerinin kesişme noktalarında büyüdüğü bulunmuştur. "Migrazom" adı verilen bu veziküller, yaklaşık 50-100 nm çapında çok sayıda küçük vezikül içerirler. Migrazom oluşumu sırasında, hızlı büyümenin olduğu bir başlangıç aşaması ve ardından bir duraklama dönemi vardır. Sonunda, geri çekme lifleri yıkılır ve migrazomlar ortama salınır veya doğrudan çevredeki hücreler tarafından alınırlar. Bir hücre bulunduğu konumdan uzaklaşırken, arkasında migrazomlar bırakır, ardından diğer hücreler migrazomların bulunduğu yere hareket eder ve onları alırlar (161).

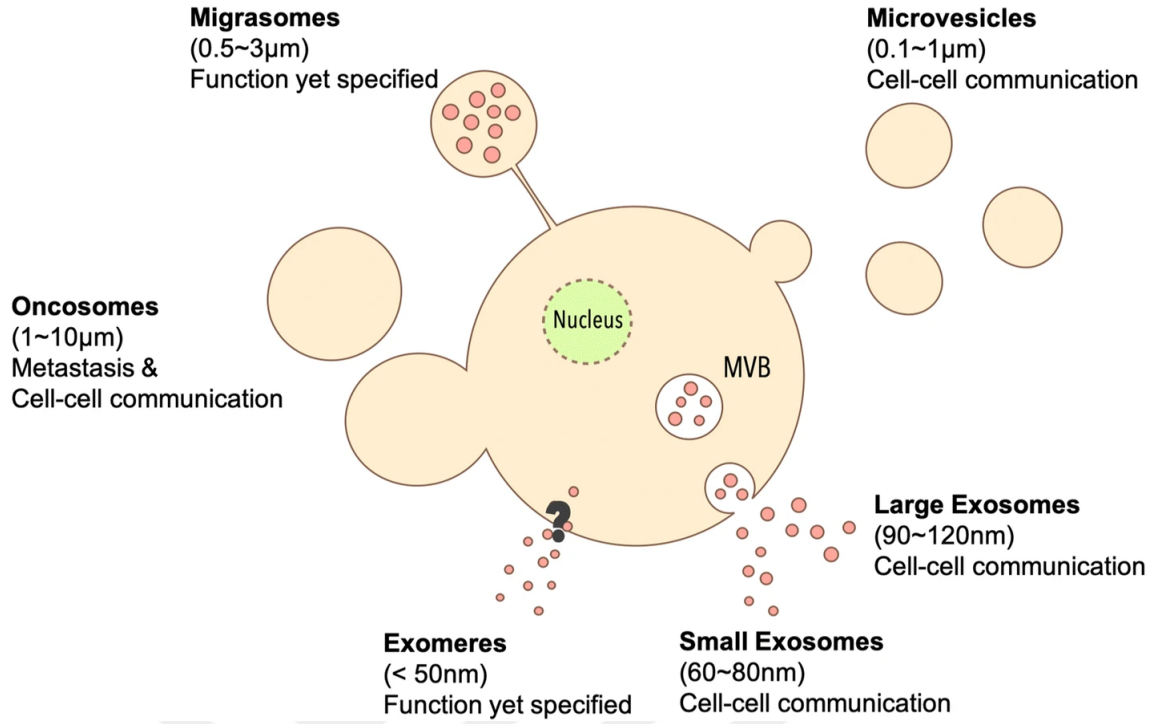
Hem migrazomlar hem de MVB 'ler, lümenlerinde daha küçük veziküller içeren büyük veziküllerdir. Bu bulgular, migrazomların MVB 'lerin retraksiyon liflerine taşınmasından kaynaklandığına dair ilginç bir hipotezi ortaya çıkarmaktadır. Bu hipotez iki tahmin ortaya çıkarmaktadır. Birincisi, migrazomlar, geri çekme liflerinden oluşan bir dış zar ve MVB 'lerden kaynaklanan bir iç zar ile iki zar katmanına sahip olacaktır. İkincisi, migrazomlar, LAMP1 gibi MVB yüzey işaretleyicileri içermelidir. Bununla birlikte, TEM analizleri, migrazomların yalnızca bir membrana sahip olduğunu açıkça göstermektedir. LAMP1'e gelince, LAMP1 eksprese eden hücrelerin büyük çoğunluğunda migrazom üzerinde LAMP1 yoktur. Bu nedenle, geri çekilme liflerine taşınan MVB 'lerden migrazomların ortaya çıkması olası değildir. MVB 'lerin migrazom biyogenezine katılıp katılmayacağı hala belirlenmemiştir, ancak intralüminal veziküllerin topolojik bariyerin üstesinden gelmek için kaçmanın bir yolunu bulması gerekmektedir (Şekil 2.7.2).

Migrasitoz, hücre göçüne bağlıdır. Migrazom oluşumu da hem migrasyona hem de aktin polimerizasyonuna bağlıdır. Migrasitoz ve migrazomlar birçok hücre tipinde mevcuttur. TEM analizleri, migrazom benzeri yapıların göz, akciğer ve bağırsak gibi

çeşitli dokularda mevcut olduğunu ortaya koymaktadır. Sitosolik içerikler aktif olarak migrazomlara taşınır ve ardından hücrelerden salınır. Bu nedenle, migrasitoz yeni bir hücresel süreçtir ve migrazomlar, hücre-hücre iletişimde önemli roller oynayabilen yeni keşfedilmiş organellerdir (161, 164, 168).



Şekil 2.7.1. Ekzozomlar, MVB 'ler ve migrazomlar arasındaki ilişkinin gösterimi (161).



Şekil 2.7.2. Ekstraselüler vezikül tiplerinin şeması. Farklı ekstraselüler vezikül tiplerinin farklı boyutları ve salgı yolları vardır (163).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmalar Mart 2019-Mart 2020 tarihleri arasında, İstanbul Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan hücre kültürü, ışık ve elektron mikroskopi laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.1. HÜCRE KÜLTÜRÜ DENEY ÖNCESİ HAZIRLIK

Hücre kültürü laboratuvar ortamının ve burada kullanılan malzemelerin temiz ve steril olması deneylerin yapılabilmesi için, hücre kültürü laboratuvar yüzeyleri düzenli olarak % 70 alkol ile silindi ve UV lambaları ile ortamın steril olması sağlandı. Çalışmaya başlamadan yaklaşık yarım saat önce laminar hava akışlı kabin çalıştırıldı. Serum, medyum, ilaç ekstratı gibi ısıya dayanıksız malzemelerin sterilizasyonu için filtreler kullanıldı. Isıya dayanıklı ependorflar, pipet uçları, medyum şişelerinin kapakları ve hazırlanan çözeltiler otoklavda steril hale getirildi.

3.2. HÜCRELERİN PROLİFERASYONU

Çalışmada Avrupa Tıp Kültürü Koleksiyonu (ATCC), kaynaklı olan, sıçan beyin glioma hücre hattı (CRL2199) kullanıldı. C6 glioma hücrelerinin 25 ve 75 cm² 'lik steril flasklarda, DMEM-F12 medyumunu içerisinde (Dulbecco 'nun modifiye edilmiş Eagle medyumunu ve besleyici F12 ham medyumunu) zemine tutunması sağlandı. Bu steril edilmiş medyuma %10 'luk fetal sıgır serumu (FCS), 0.2 µM glutamin, 100 µg/ml streptomisin, 100 IU/ml penisilin süzülerek konuldu. Hücreler %5 CO₂ ve % 95 hava içeren, 37 °C 'lık inkübatörde haftada iki kez pasajlanarak çoğaltıldı.

3.3. HÜCRELERİN PASAJLANMASI

Hücreler flaskların % 70 'ini kapladıkları zaman pasajlama işlemine başlandı. Medyum uzaklaştırıldıktan sonra flaskta kalan hücreler kalsiyum ve magnezyum içermeyen fosfat tamponu (CMF-PPS) ile yıkandı. Flaska yapışan hücreler, % 2 'lik tripsin ile flask yüzeyinden kaldırıldı ve üzerine tripsin miktarı kadar medyum ilave edildi. Hücreler pipetaj aracılığıyla toplandı ve santrifüj tüpüne geçirildi. Hücreler 1500 rpm 'de beş dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atıldı ve 2 ml medyum ilave

edilip pipetaj yapıldı. Hücreler medyum konulmuş flasklara ekilerek inkübatöre kaldırıldı.

Çalışmamızda hücre sayıyısını hesaplayabilmek için Neubauer sayma kamarası kullanıldı. C6 glioma hücreleri CMF-PBS ile yıkandı. Hücrelerin üzerine % 2 'lik tripsin konuldu (25 cm² flask için 2 ml, 75 cm² flask için 6 ml). Hücreler inkübatörde 3 dk kontrol edilerek bekletildi ve zeminden ayrıldığı zaman ortama serumlu medyum ilave edildi. Hücreler pipetaj yapılarak tüp içerisine alındı ve 1500 rpm de 5 dk santrifüj edildi. Daha sonra tripsinli medyum atılarak hücre yoğunluğuna göre 2-5 ml taze medyum ilave edildi. Hücre süspansiyonu Neubauer lamına 45° lik açıyla verildi. Dört ayrı kare sayılarak ortalaması alındı, sulandırma katsayısıyla çarpılarak toplam hücre sayısı hesaplandı (Toplam hücre sayısı / ml = sayım sonuç ortalaması $\times 10^4 \times$ medyum miktarı).

3.4. İLAÇ VE HORMON İÇİN DOZ HAZIRLIKLARI

Çalışmada kullanılacak uygun dozların belirlenebilmesi için yüksek, düşük ve orta konsantrasyonlar uygulanarak ön deneyler yapıldı. Uygun ilaç ve hormon konsantrasyonları ve uygulama saatleri ayarlandı. Çalışmada, Anax imperator'un (Emperor dragonfly, imparator yusufçuk), corpora cardiaca ekstratından biyoanalizle elde edilen sentetik peptidin, (nöropeptid pGlu-Val-AsnPhe-Ser-Pro-Ser-Trp-NH₂, A. imperator adipokinetik hormon, Ani-AKH) 5, 10 ve 50 µl 'lik konsantrasyonları, kullanıldı (171, 172).

Toz halinde bulunan klozapin (Sigma, C6305-1G) (110, 173), haloperidol (Sigma, H1512-5G) (114, 173) ve dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözüldü. Stok solüsyonlar hazırlanarak filtre edildi. Hazırlanan yoğun stok solüsyonları DMEM / F12 medyumunu ile dilüe edilerek hücrelere uygulanacak konsantrasyonlar hazırlandı. Gruplar; kontrol, klozapin 5 µM, haloperidol 10 µM, adipokinetik hormon 50 µM, adipokinetik hormon 10 µM ve adipokinetik hormon 5 µM olarak belirlendi.

3.5. İLAÇ VE HORMON DOZLARIN UYGULANMASI

C6 glioma hücreleri, % 70 yoğunluğa ulaştığında, tutunmuş oldukları zeminden % 2' lik tripsinle kaldırıldı ve 1:1 oranında medyum ilave edilerek, santrifüj tüpüne alındı. Santrifüj işleminden sonra süpernatant atıldı, pellet üzerine medyum eklenerek

süspansiyon haline getirildi ve sayım işlemi yapıldı. Deneyde on iki kuyucuklu (well plate) kültür kapları kullanıldı ve her bir grup için üçer kuyucuğa 4 ml DMEM-F12 medyum konuldu. Canlılığı yaklaşık % 100 olan 100.000 adet C6 glioma hücresi ekildi. 24 saat sonra medyum uzaklaştırıldı ve klozapin 5 μ M, haloperidol 10 μ M ve adipokinetik hormon 50 μ M, 10 μ M , 5 μ M ilaç-hormon içeren medyum karışımları uygulandı ve hücreler 37 C ° 'de % 5 CO₂ hava karışımı olan nemli inkübatörde 24 saat boyunca bekletildi. Ardından %0,1'lik tripan mavisini ile eşit miktarda hücre solüsyonu karıştırılarak sayma kamerasında sayıldı ve canlı hücre oranları belirlendi.

3.6. İMMÜNOSİTOKİMYASAL BOYAMALAR

Yuvarlak lameller, 12 kuyucuklu plakalara yerleştirildi. C6 glioma hücreleri, yaklaşık % 70 yoğunluğa ulaştığında, tutunmuş oldukları zeminden % 2 'lik tripsinle kaldırıldı, 1:1 oranında medyum ilave edildi ve santrüfjü tüpüne alındı. Santrüfjü ve sayım işleminden sonra, yuvarlak lamellere eşit miktarda olacak şekilde süspansiyondan yaklaşık 30.000 hücre pipetör yardımıyla ekildi. Ekilen hücreler inkübatöre kaldırıldı ve tutunmaları için 1 saat bekletildi. Daha sonra tutunan hücrelerin üzerine 4 ml medyum ilave edilerek inkübatörde 24 saat bekletildi. Klozapin 5 μ M, haloperidol 10 μ M ve adipokinetik hormon 5 μ M ,10 μ M ve 50 μ M medyum-ilaç karışımları uygulandı ve 37 °C 'de % 5 CO₂ hava karışımı olan inkübatörde 24 saat bekletildi. Süre sonunda medyumlar uzaklaştırıldı, hücreler CMF-PBS ile yıkandı. Lamel üzerinde bulunan hücreler % 4 'lük paraformaldehit ile 10 dk tespit edildi ve boyama işlemine kadar PBS 'de bekletildi.

3.6.1. BDNF İMMÜNOHİSTOKİMYA BOYAMA

Tespit edilmiş ve PBS 'e alınmış yuvarlak cam lameller immünohistokimyasal boyamalar için işleme alındı. Lameller önce distile su ile 3 kez 2 dk ardından PBS ile 3 kez 5 dk yıkandı. Endojen peroksidazı bloklamak için hidrojen peroksitte (H₂O₂) bekletildi (5 dk). Daha sonra PBS ile yıkandı 3 kez 5 dk ve özgül olmayan antikor bağlanmalarını engellemek için 5 dakika blok serumda bekletildi. İmmünohistokimyasal boyama için BDNF (sc-65514) primer antikor ve 3-amino-9-etilkarbazol (AEC) kromojeni (Biolegend, 925804) kullanıldı.

Lamellere 1/50 oranında dilüe edilmiş olan BDNF primer antikoru uygulandı ve bir gece +4 °C 'de buzdolabında bekletildi ve 2 kez 2 dakika PBS 'den geçirildi. Lamellere birbuçuk saat sekonder antikor uygulandı ve 2 kez 2 dakika PBS 'den geçirildi. Lameller 30 dakika boyunca avidin D-HRP de bekletilerek 2 kez 2 dakika PBS ile yıkandı. Lameller AEC kromojeniyle 4 dakika boyanarak distile su ile yıkandı. Mayer 'in hematoksileni ile 1 dakika zıt boyanma yapıldı, ardından çeşme suyu ile yıkandı ve su bazlı kapatıcı ile kapatıldı. Boyanan örnekler ışık mikroskopunda incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.6.2. BDNF İMMÜNOFLORASAN BOYAMA

Tespit edilmiş ve PBS 'e alınmış yuvarlak cam lameller immünofloresan boyamalar için işleme alındı. Lameller önce 2 kez 2 dakika distile su ile, ardından 3 kez 5 dakika PBS ile yıkandı. Hidrojen peroksitte 5dk bekletildi. Daha sonra 3 kez 5 dakika PBS ile yıkandı ve özgül olmayan antikor bağlanmalarını engellemek için 5 dakika blok serumda bekletildi. İmmünofloresan boyaması için BDNF primer antikoru (sc-65514) ve DAPI içeren kapatma medyumu (abcam, 104139) kullanıldı.

Lamellere 1/50 dilusyon oranında BDNF primer antikoru uygulandı ve bir gece +4 °C 'de buzdolabında bekletildi ve 3 kez 5 dakika PBS 'ten geçirildi. Sonraki aşamalar karanlık odada ve kırmızı ışık yardımıyla yapıldı. Lameller 1 / 100 dilusyon oranındaki sekonder antikorda 1 saat bekletildi ve 3 kez 5 dakika PBS ile yıkandı. Kromojenli kapatma sıvısı (4',6-diamidino-2-fenilindol, DAPI, Thermo Fisher Scientific) ile nükleus boyaması yapıldı ve lameller kapatıldı. Boyanan örnekler floresan mikroskopta incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3.6.3. GÖRÜNTÜ ANALİZİ

İmmünositokimyasal olarak boyanan ve lam üzerine alınan yuvarlak lameller bir DP72 Olympus kamera sistemli bir Olympus BX61 mikroskop ile X 40 objektif kullanılarak fotoğraflandı ve görüntü kayıtları TIFF ((Tagged Image File Format; Görüntü Dosyası Formatı) olarak saklandı. Analiz edilen alandaki pozitif piksel oranını ölçmek için Görüntü J analiz programı ile görüntü analizi yapıldı.

Görüntü J analiz programında 8-bit 'lik boyanmış kolon kesitlerine renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı. Renk dekonvolüsyon işlemi sonrasında elde edilen

algoritmalar istatistiksel olarak değerlendirildi. Her grupta yer alan boyamalardan (n=5) x 40 büyütmede elde edilen 2 ayrı görüntüye renk dekonvolüsyon işlemi uygulandı (44, 174-177). Renk dekonvolüsyon işlemi sonrasında elde edilen algoritmalar istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.7. ELEKTRON MİKROSKOP TAKİBİ

Her deney grubundan elde edilen hücrelerin ince yapı özelliklerinin değerlendirilmesi için elektron mikroskopik inceleme yapıldı. Elektron mikroskobu için hücrelerin üst medyumu atıldı, CMF - PPS ile yıkandıktan sonra tripsinle toplanarak santrifüj edildi. Pellet halindeki hücreler % 2,5 'lik gluteraldehit solüsyonunda + 4 °C 'de 30 dakika tutularak tespit edildi. Hücreler fosfat tamponunda +4 °C 'de 10 dakika yıkama yapılarak % 1 'lik osmik asit içinde +4 °C 'de 1 saat bekletildi. Hücreler fosfat tamponunda +4 °C 'de 10 dakika yıkandı. Kontraslama için hücreler % 1 'lik uranil asetat 'da +4 °C 'de 30 dakika bekletildi ve fosfat tamponunda +4 °C 'de 10 dakika yıkandı. Hücreler % 30 'luk ve % 50 'lik alkol içinde 10 dakika bekletildi. Daha sonra hücreleri bir arada tutabilmek için yumurta akı kullanıldı ve hücreler santrifüj edildi. Hücreler, % 70 alkolde +4 °C 'de bir gece bekletildi. Ertesi gün oda sıcaklığında 10 dakika sırasıyla, % 90, % 100 alkol serilerinden geçirilerek 2 kez 10 dakika propilen oksitte bekletildi. Hücreler sırayla 1:1, 1:3 oranında propilen oksit epon karışımında ve saf eponda oda sıcaklığında 1 saat bekletildi. Daha sonra hücreler, epon içeren kapsüllere gömülerek etüvde 60 C° 'de 18 saat bekletildi. Polimerize olan epon bloklardan Leica EM UC7 ultramikrotomda, elmas bıçak ile yaklaşık 60 nm kalınlıkta alınan kesitler bakır gridler üzerine alındı. Gride alınan kesitler, uranil asetat ve kurşun nitrat ile kontrastlanarak Jeol JEM 1011 transmisyon elektron mikroskobunda incelenendi. Mega View III dijital kamera ve Soft Imaging System AnalySIS programı ile görüntülendi.

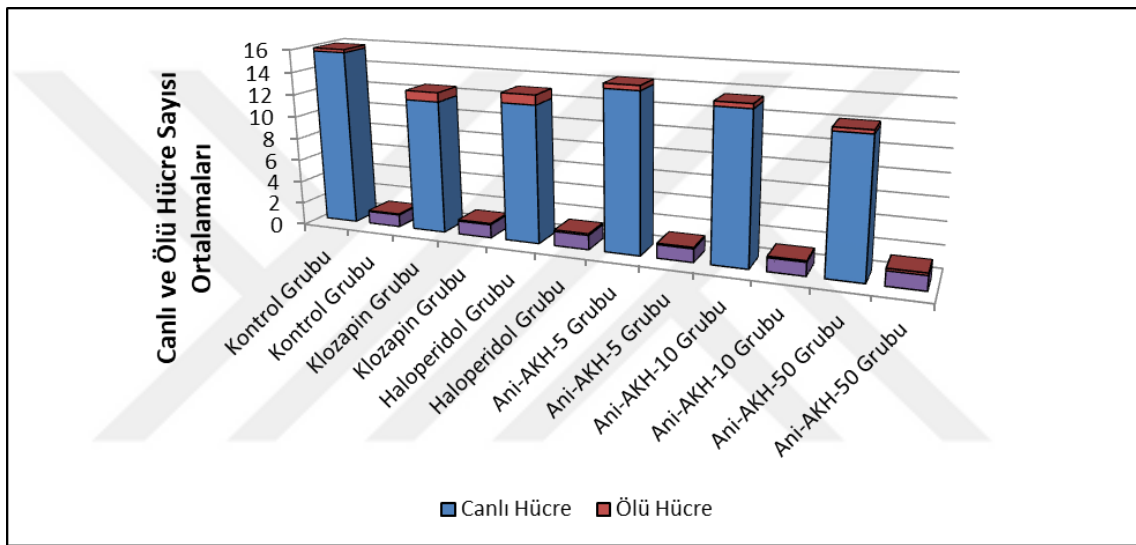
3.8. İSTATİKSEL ANALİZ

İstatistik analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) programı kullanıldı. Elde edilen sonuçlar, tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve post-hoc TUKEY testleri kullanılarak değerlendirildi. İstatistik analizler sırasında güven aralığı p <0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. CANLI VE ÖLÜ HÜCRE SAYIMLARI

Kontrol, klozapin, haloperidol, Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarının tripan mavisi boyamasıyla canlı ve ölü hücre sayımları istatistiksel olarak analiz edildi. Gruplar arasında canlı ve ölü hücre sayıları bakımından herhangi bir anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.1.1).



Şekil 4.1.1. Kontrol, klozapin, haloperidol, Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarının canlı ve ölü hücre sayımlarını gösteren grafik.

4.2. BDNF İMMÜNOSİTOKİMYA BOYAMASI

Görüntü analiz programı ile BDNF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında kontrol grubu ile klozapin grubu arasındaki fark anlamlı bulunmadı ($p= 0,0002$, Şekil 4.2.1, Şekil 4.2.2 ve Şekil 4.2.5). Kontrol grubu ile haloperidol grubu arasındaki BDNF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında anlamlı fark bulunmadı ($p= 1$, Şekil 4.2.1, Şekil 4.2.8). İmmünohistokimyasal olarak kontrol grubuyla Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 grupları arasındaki BDNF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında aralarındaki fark anlamlı bulundu ($p<0.001$, Şekil 4.2.1, Şekil 4.2.11, Şekil 4.2.14 ve Şekil 4.2.17).

Ani-AKH-5 grubunun BDNF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında, Ani-AKH-10 grubu ile arasındaki fark anlamlı değilken ($p=0,0004$), Ani-AKH-50 grubu ile arasındaki fark anlamlıydı ($p<0.001$, Şekil 4.2.1). BDNF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 grupları arasındaki fark ise anlamlı değildi ($p= 0,9783$, Şekil 4.2.1).

BDNF immünohistokimya ve nükleus için Mayer'in hematoxilen zıt boyamasıyla ışık mikroskopunda, C6 glioma hücrelerinin morfolojik değişiklikleri incelendi. Işık mikroskopunda dejenerasyon morfolojisi gösteren C6 glioma hücreleri, piknotik nükleus (kondanse kromatin) ve az miktarda koyu boyanmış bir sitoplazmaya sahipti. Apoptozisin belirtilerinden olan aşırı DNA sentezi ve atipik nükleus bölünmelerinin sonucu, multinuklear hücrelerin oluştuğu gözlemlendi. Sitoplazmasında çeşitli büyüklük ve miktarda vakuoller içeren C6 glioma hücreleri saptandı.

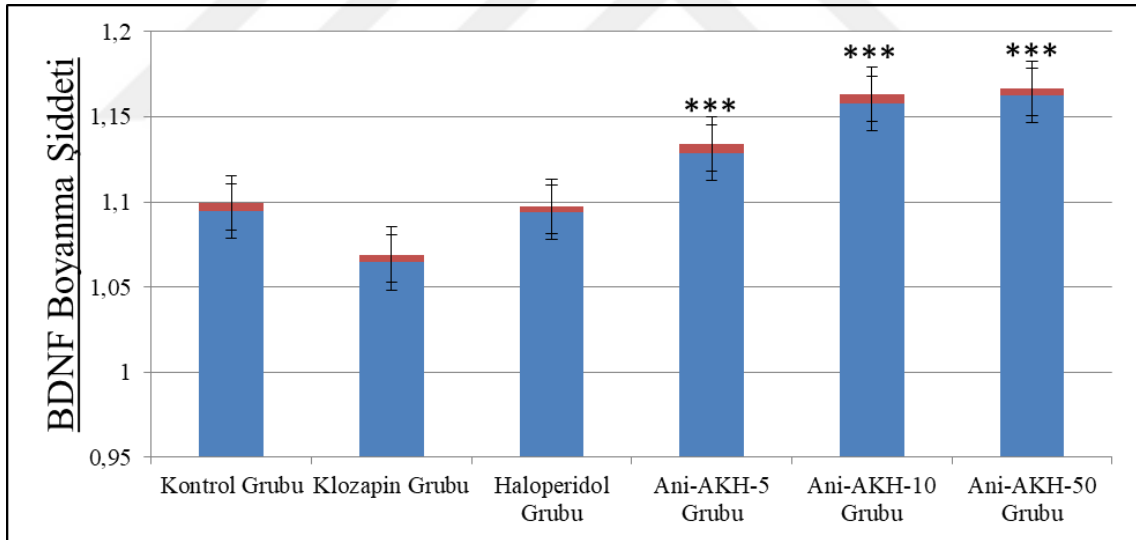
Kontrol grubuna ait C6 glioma hücreleri, genelde oval veya yuvarlak biçimli heterokromatinden fakir bir nükleusa ve belirgin nukleolusa sahip karakteristik bir görünüme sahipti. Kontrol grubuna ait fuziform, triangular veya iğ şekilli C6 hücrelerinin, sıkı kümeler oluşturduğu gözlemlendi. Tüm gruplara göre daha az miktarda piknotik ve vaküollü hücre gözlemlendi (Şekil 4.2.3 ve Şekil 4.2.4).

Klozapin grubu C6 glioma hücrelerinde, piknotik, multinuklear ve sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler gözlemlendi. Klozapin grubu C6 glioma hücrelerinin, kontrol grubuna göre vakuol boyutlarının daha büyük ve fazla sayıda olduğu görüldü (Şekil 4.2.6 ve Şekil 4.2.7). Haloperidol grubu C6 glioma hücrelerinde, piknotik ve sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler gözlemlendi. Haloperidol grubu C6 glioma hücrelerinin, klozapin grubuna göre vakuol boyutlarının daha küçük ve az sayıda olduğu görüldü (Şekil 4.2.9 ve Şekil 4.2.10). Klozapin ve haloperidol grubu C6

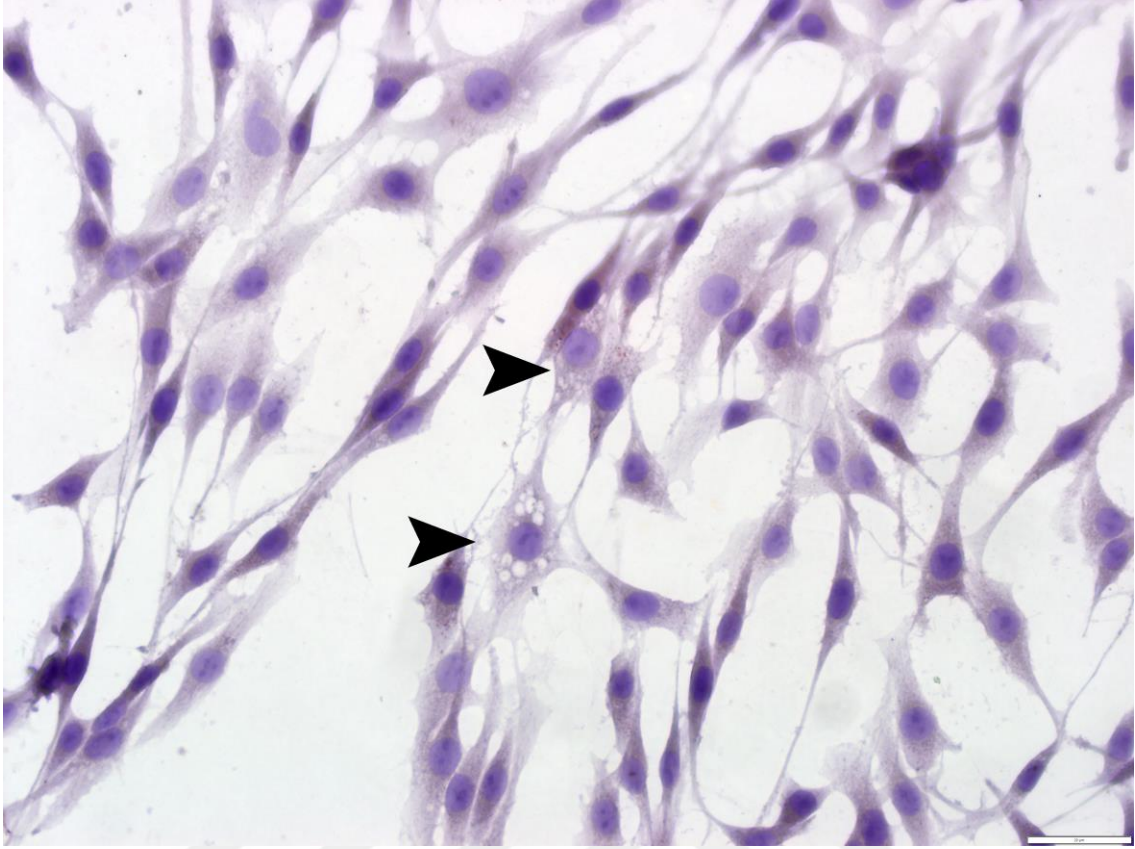
glioma hücreleri, kontrol grubundan daha geniş hücreler arası mesafelere sahipti (Şekil 4.2.2, Şekil 4.2.5 ve Şekil 4.2.8).

Ani-AKH-5 grubu C6 glioma hücrelerinin, klozapin ve haloperidol gruplarına göre piknotik ve vakuollü hücre sayısı daha az, vakuol boyutlarının daha küçük ve az sayıda olduğu görüldü. Ani-AKH-5 grubuna ait C6 glioma hücrelerinde klozapin ve haloperidol grubuna göre daha dar hücreler arası mesafelere sahipti (Şekil 4.2.12 ve Şekil 4.2.13).

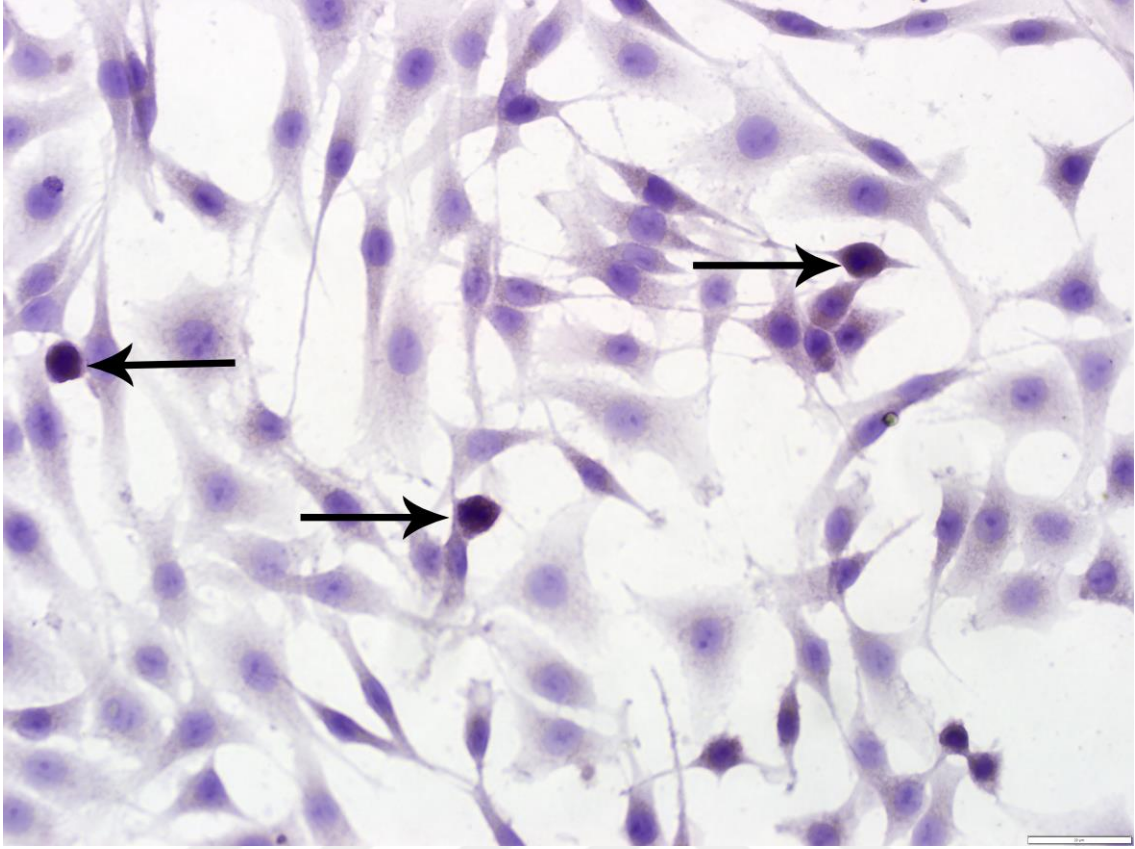
Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarına ait C6 glioma hücrelerinde de, piknotik ve sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler gözlemlendi (Şekil 4.2.15, Şekil 4.2.16, Şekil 4.2.18 ve Şekil 4.2.19). Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarına ait C6 glioma hücrelerinde, Ani-AKH-5 grubuna göre piknotik ve vakuollü hücre miktarı artmıştı. Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarına ait C6 glioma hücreleri, Ani-AKH-5 grubuna göre daha geniş hücreler arası mesafelere sahiptiler (Şekil 4.2.14 ve Şekil 4.2.17).



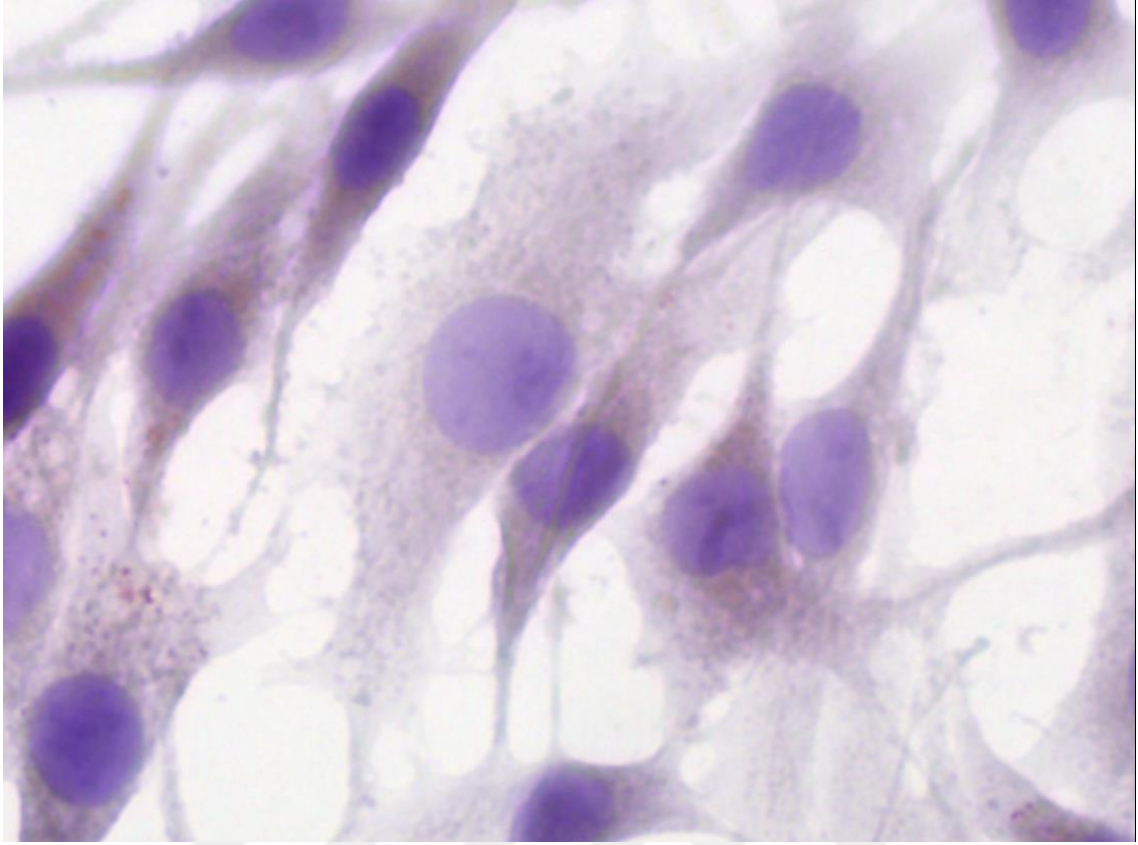
Şekil 4.2.1. Kontrol, klozapin, haloperidol, Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarının image J analiz programı kullanılarak, BDNF immünohistokimyasal boyanma şiddetini gösteren grafik. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı farklılık gösteren gruplar * işareti ile belirtilmiştir (p< 0,001).**



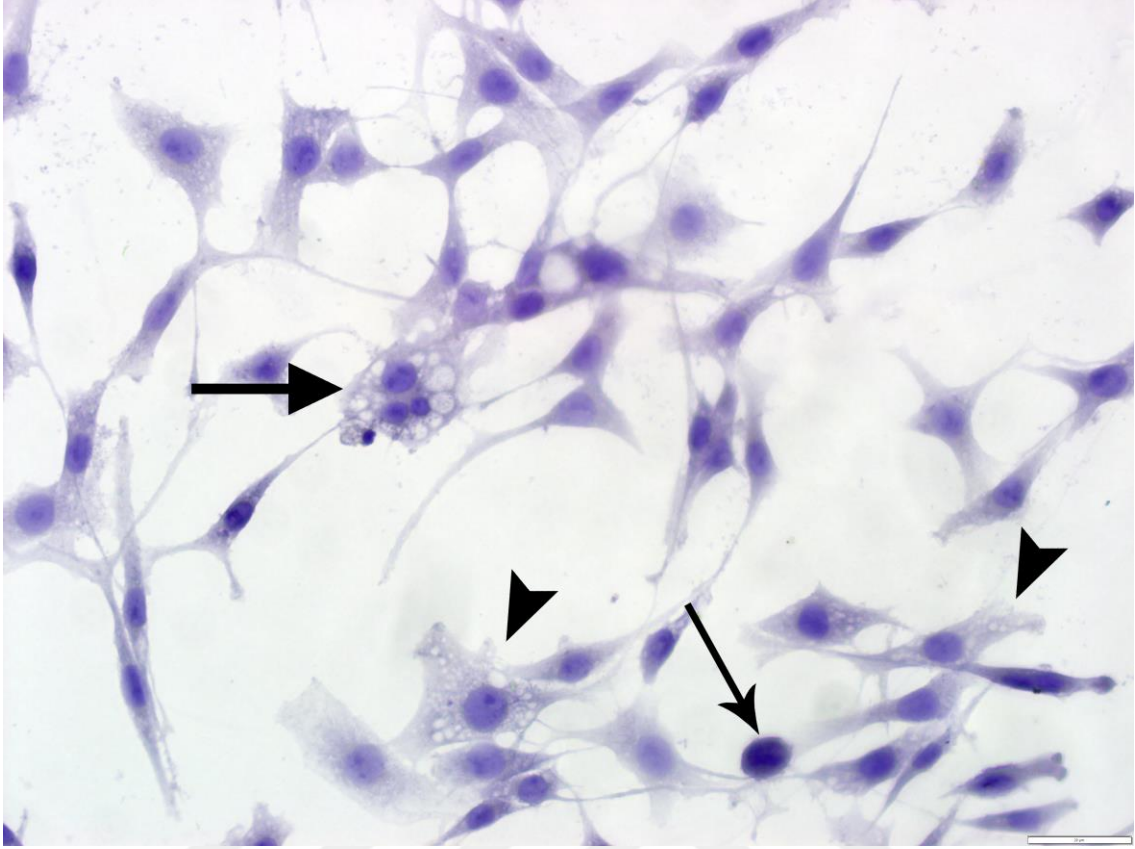
Şekil 4.2.2. Kontrol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları). Bar 20 μ m.



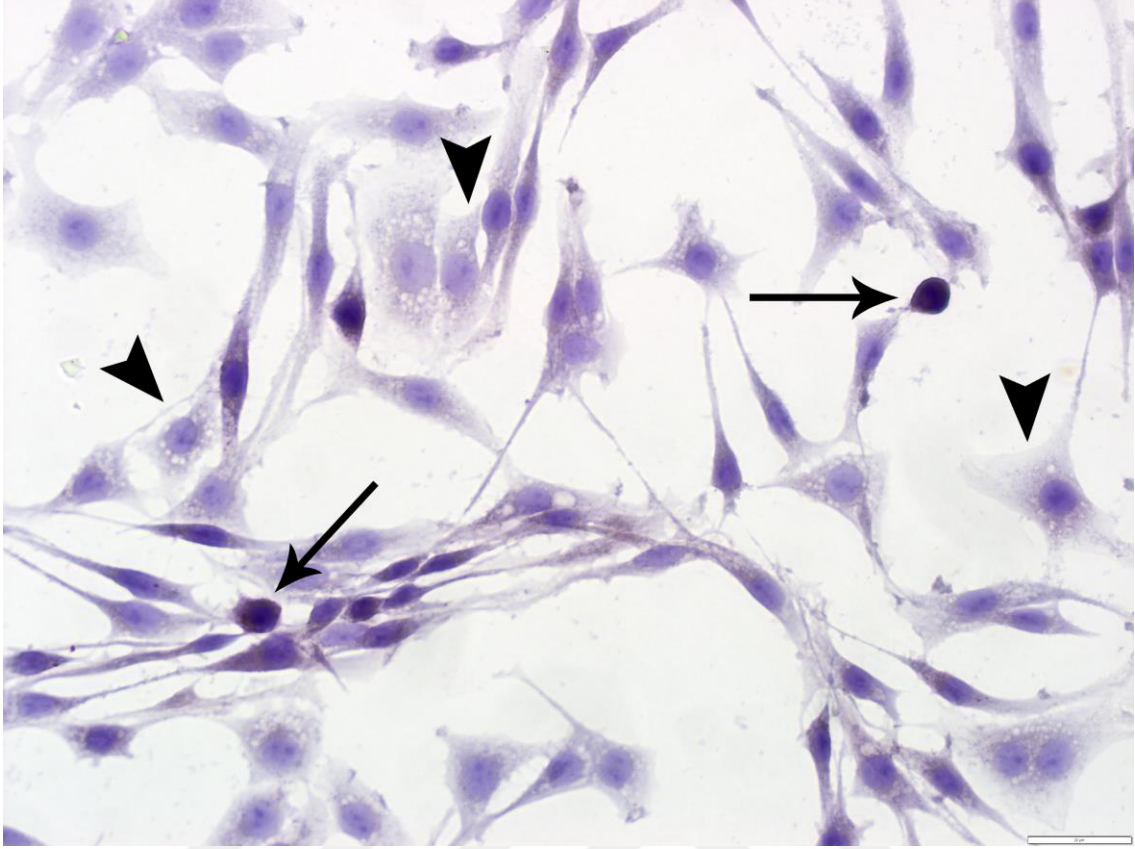
Şekil 4.2.3. Kontrol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Piknotik hücreler (oklar). Bar 20 μ m.



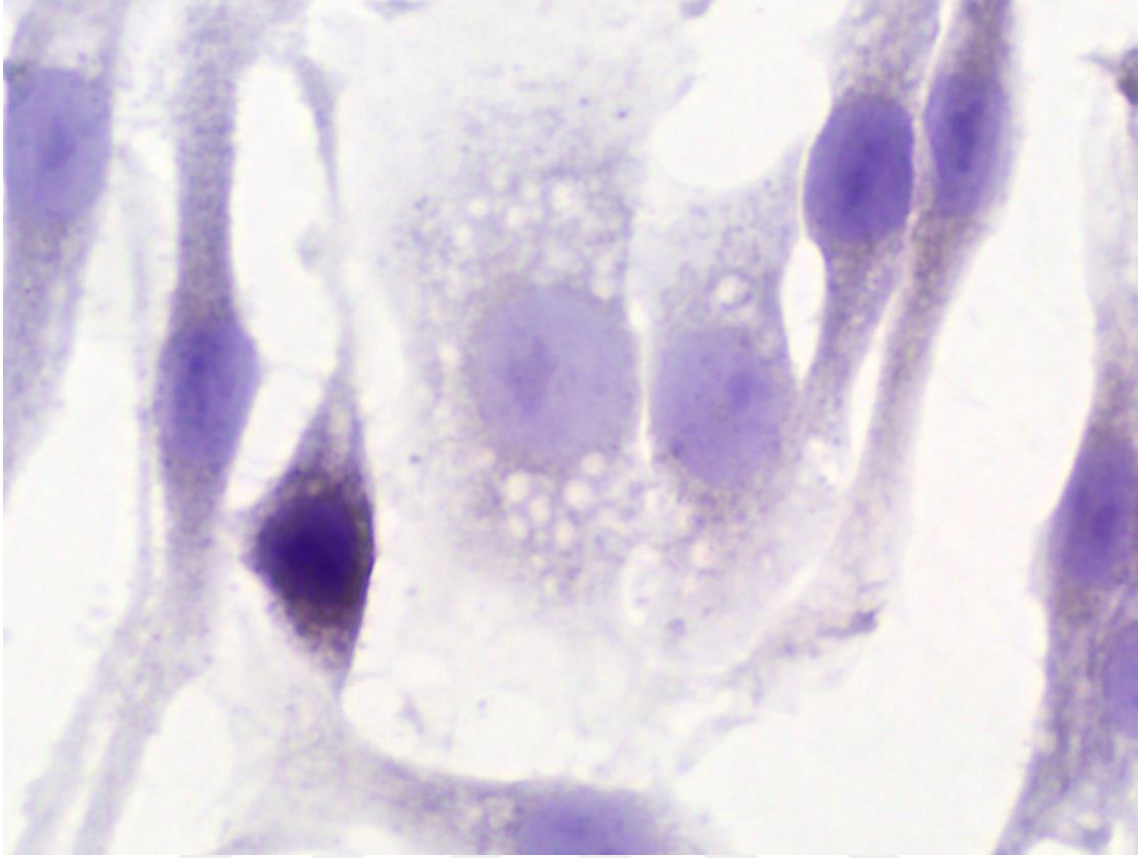
Şekil 4.2.4. Kontrol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.



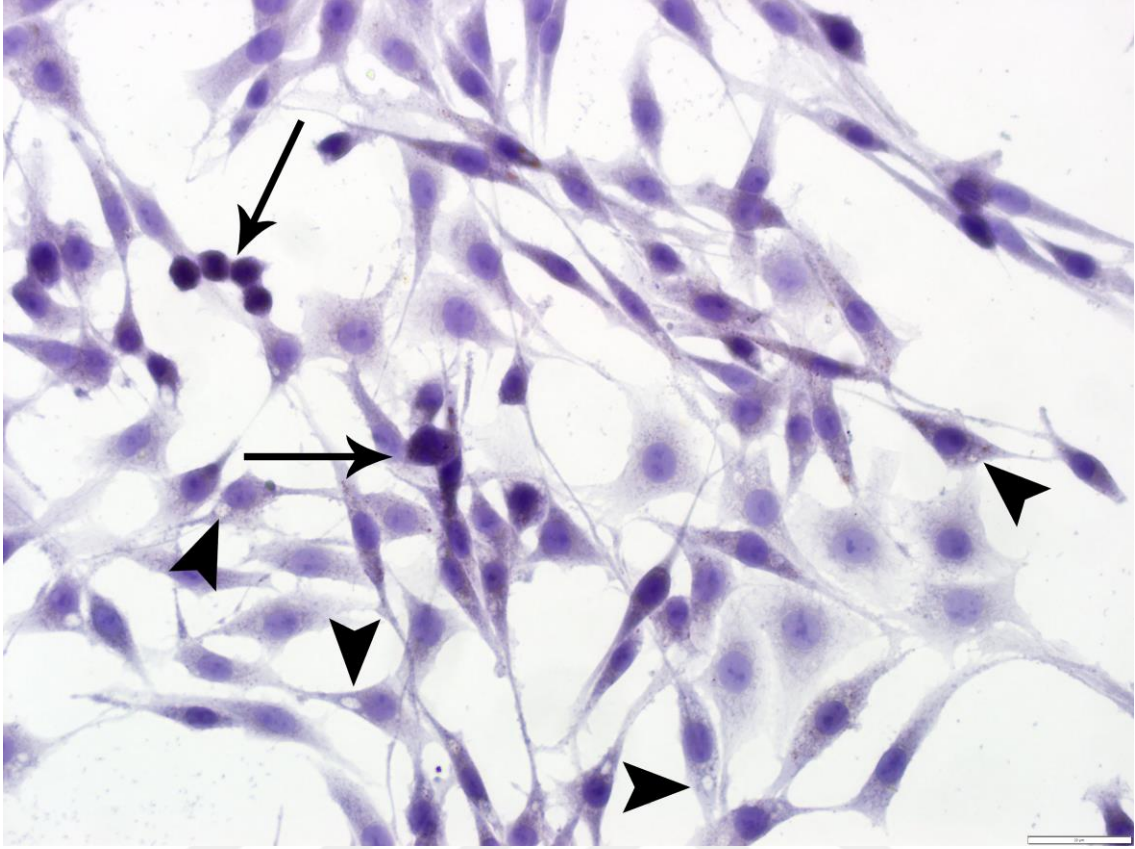
Şekil 4.2.5. Klozapin grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Multinuklear ve sitoplazmasında vakuoller içeren hücre (kalın ok), sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları), piknotik hücre (ok). Bar 20 μ m.



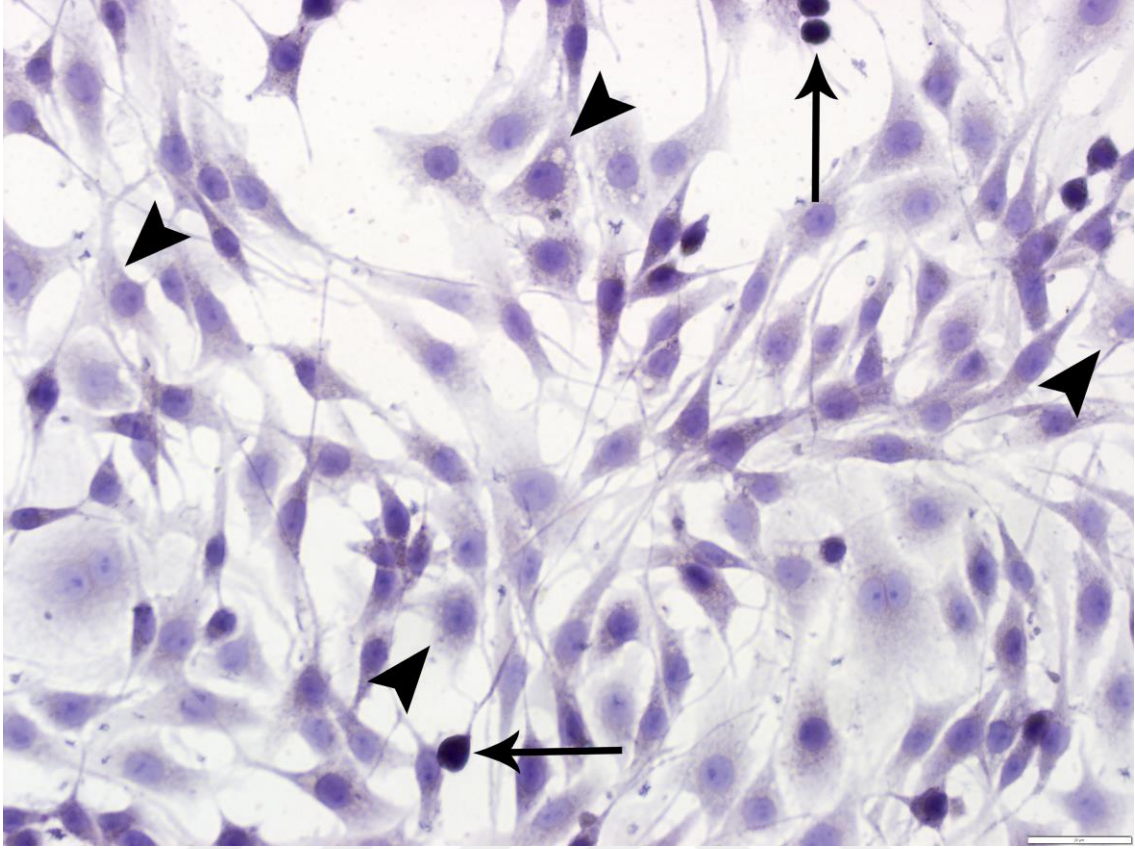
Şekil 4.2.6. Klozapin grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.



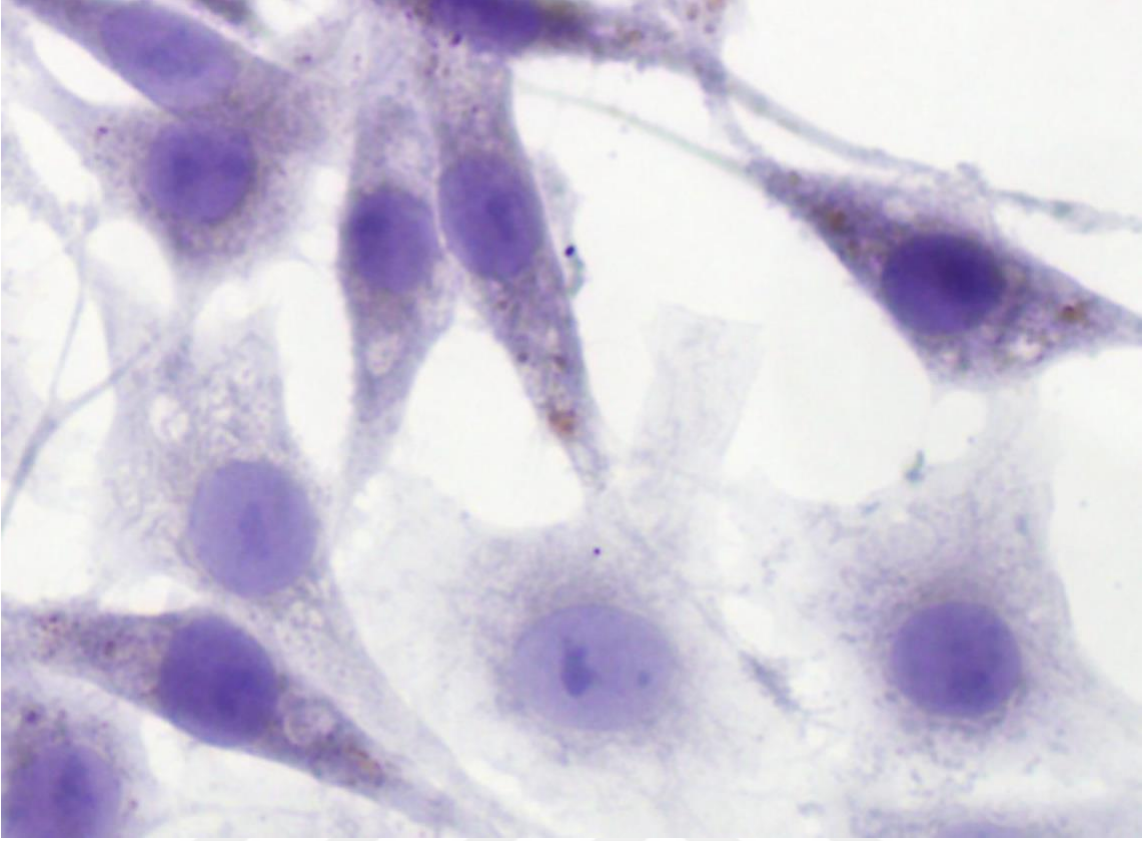
Şekil 4.2.7. Klozapin grubunun BDNF immünohistokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.



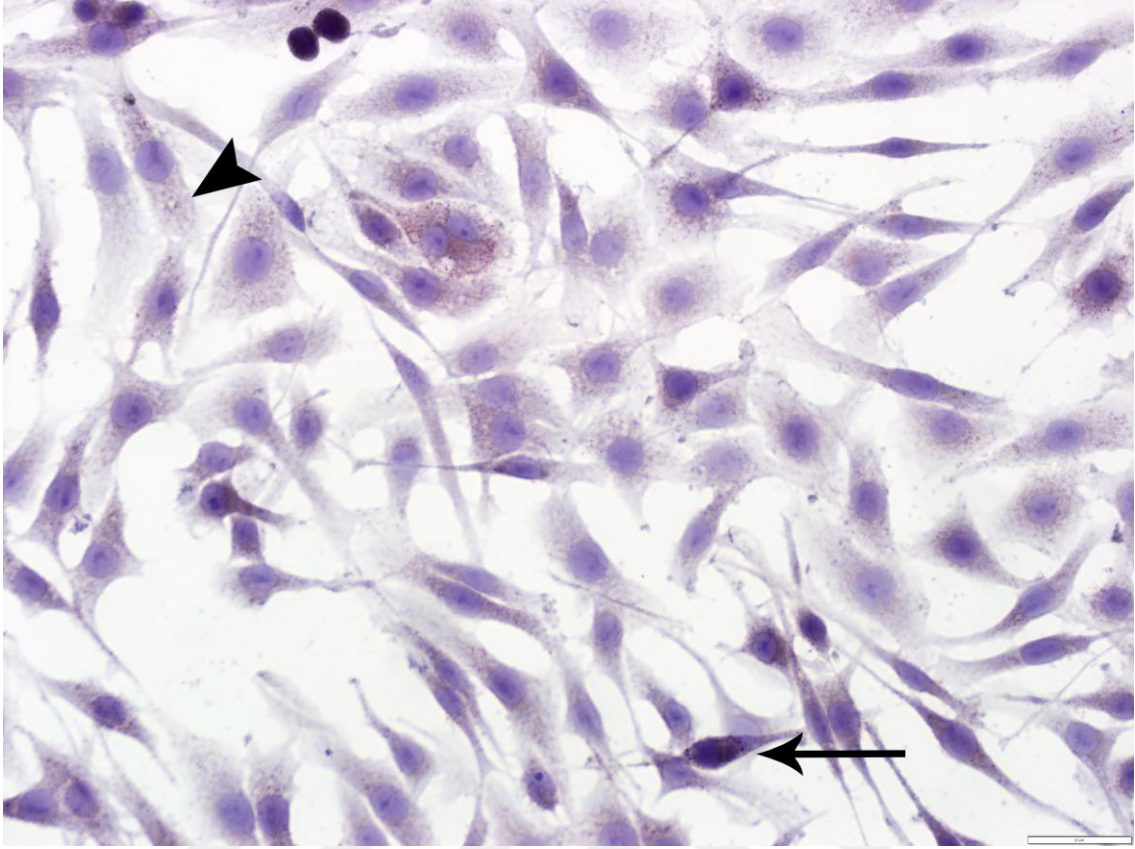
Şekil 4.2.8. Haloperidol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 μ m.



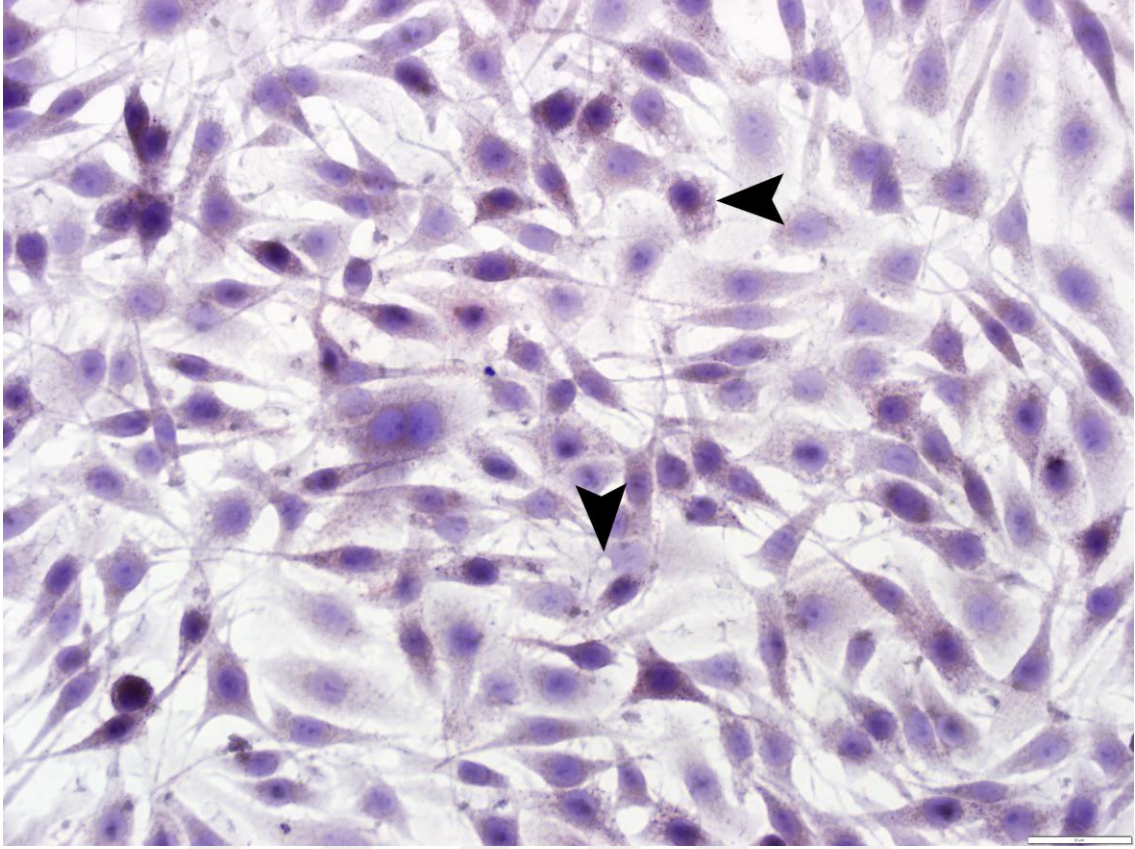
Şekil 4.2.9. Haloperidol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.



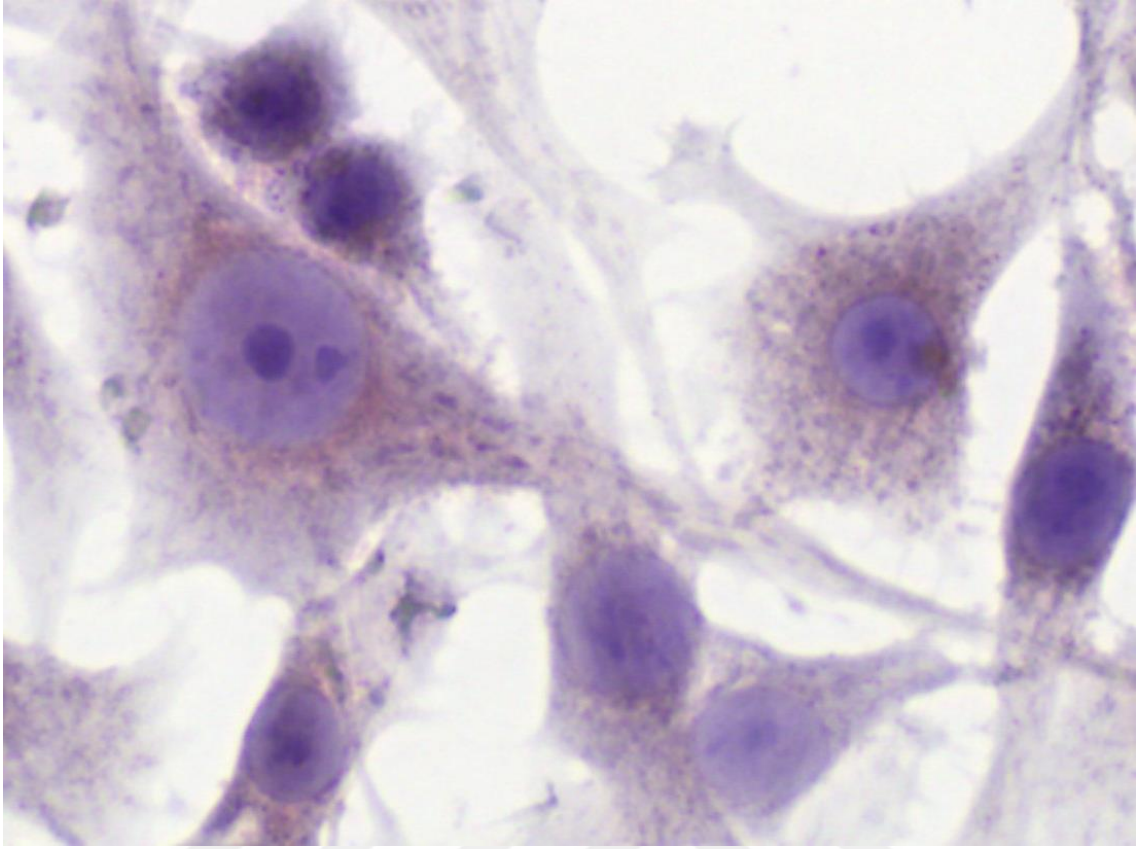
Şekil 4.2.10. Haloperidol grubunun BDNF immünohistokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.



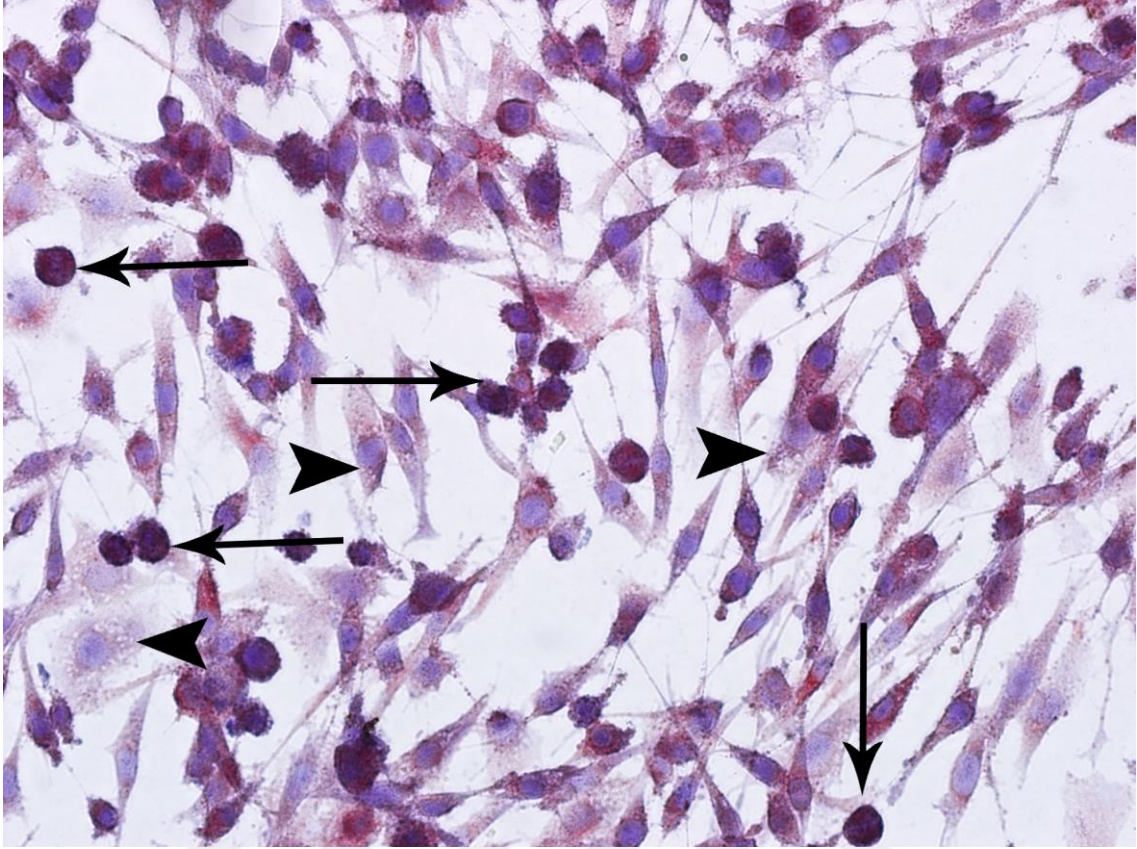
Şekil 4.2.11. Ani-AKH-5 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücre (okbaşı), piknotik hücre (ok). Bar 20 µm.



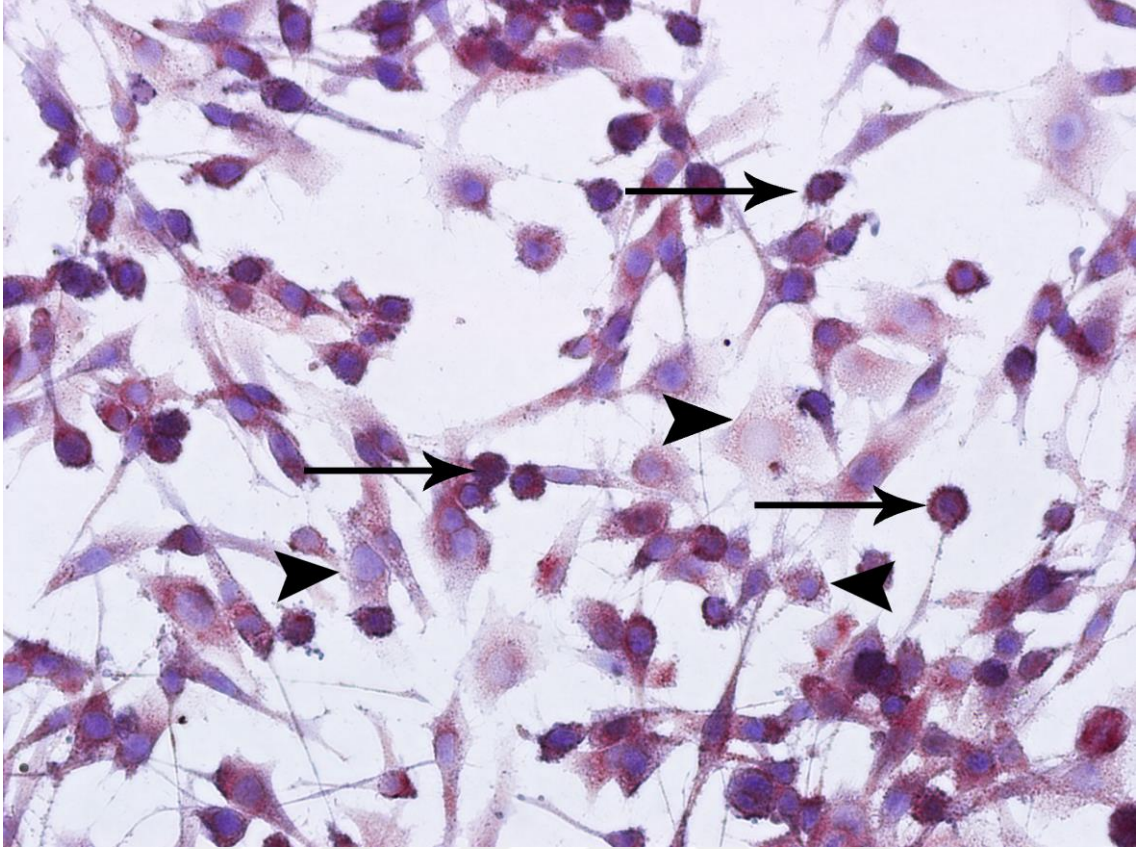
Şekil 4.2.12. Ani-AKH-5 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları). Bar 20 μ m.



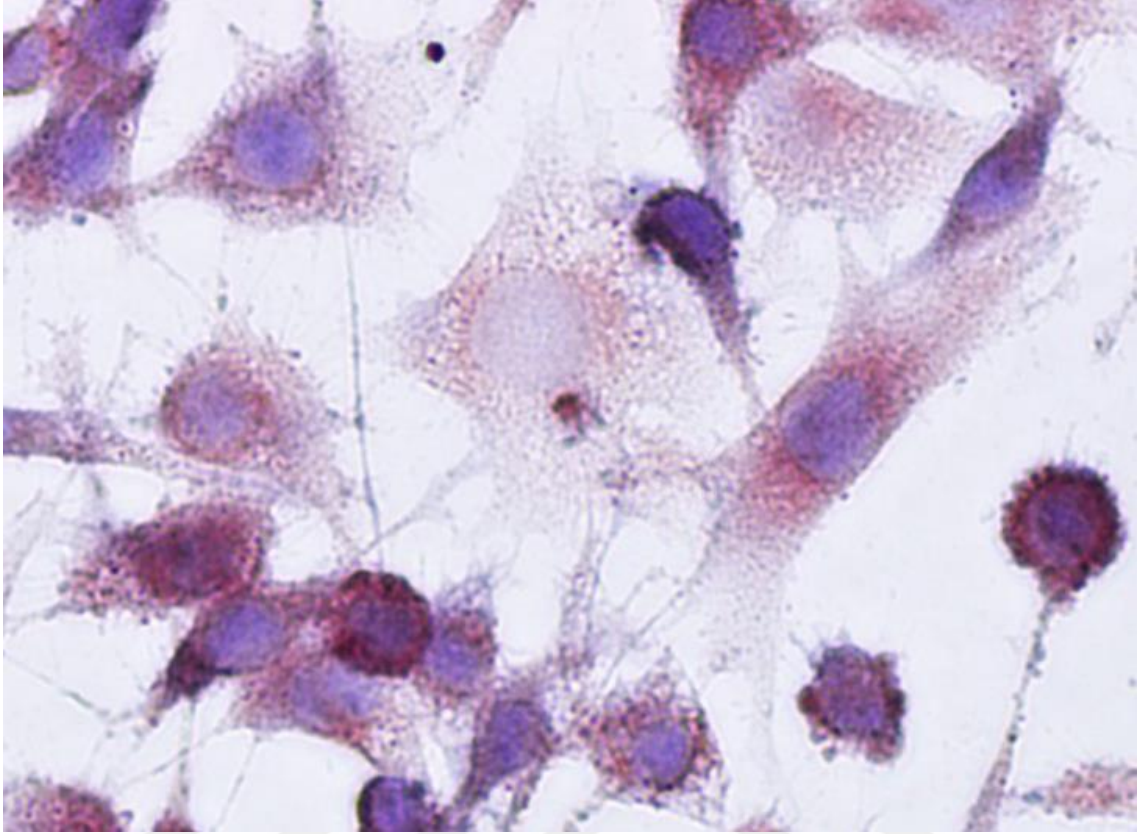
Şekil 4.2.13. Ani-AKH-5 grubunun BDNF immünositokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.



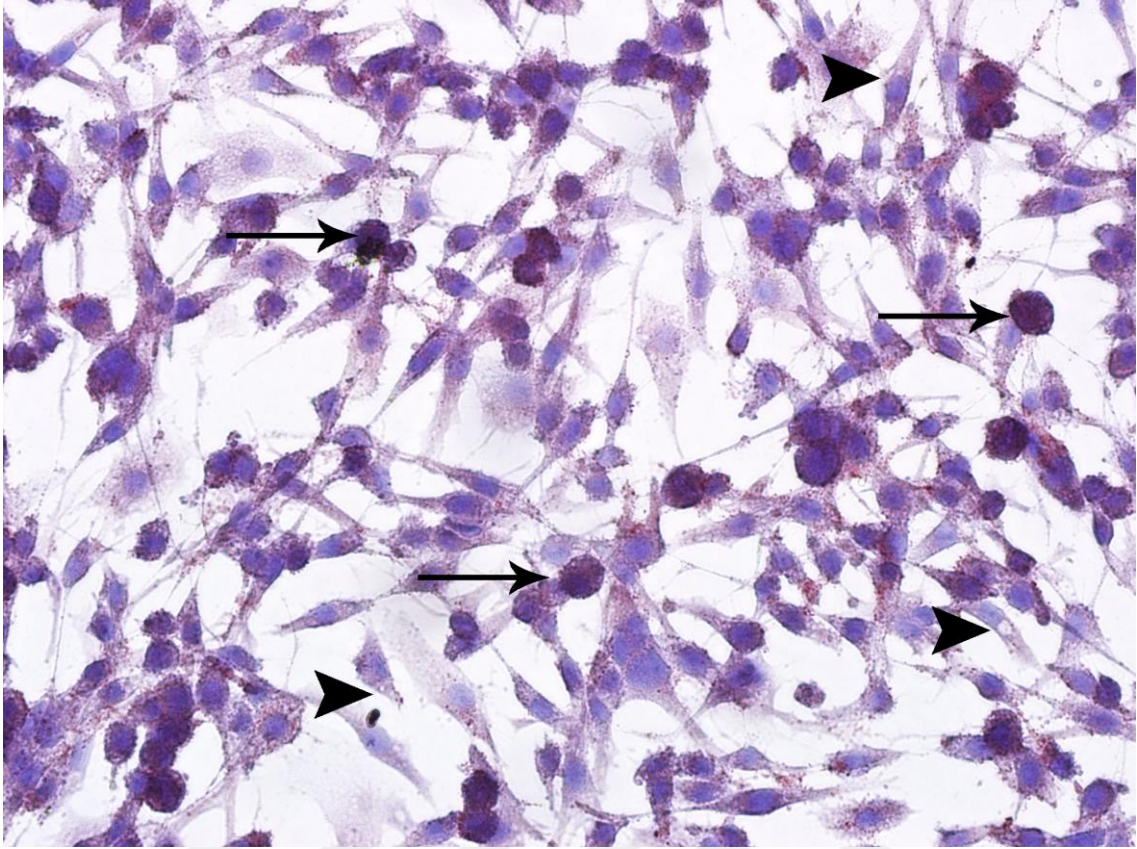
Şekil 4.2.14. Ani-AKH-10 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 μ m.



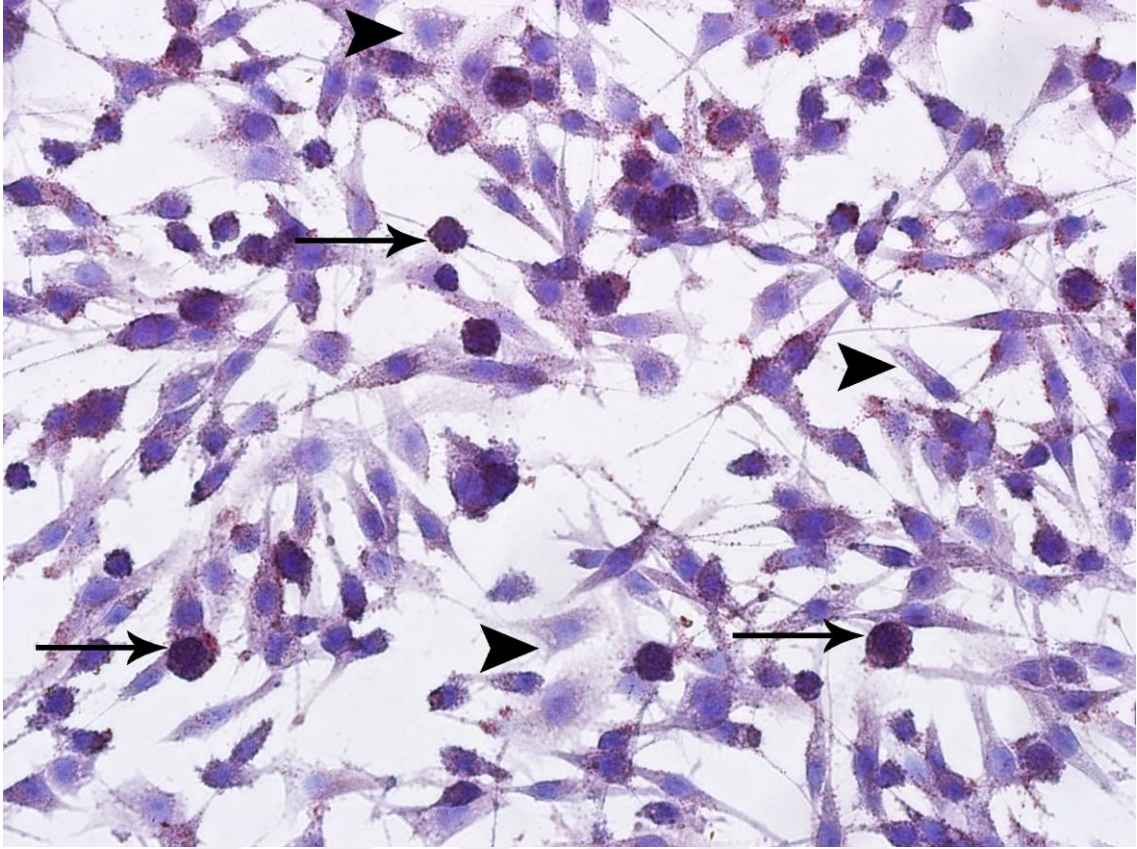
şekil 4.2.15. Ani-AKH-10 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 μ m.



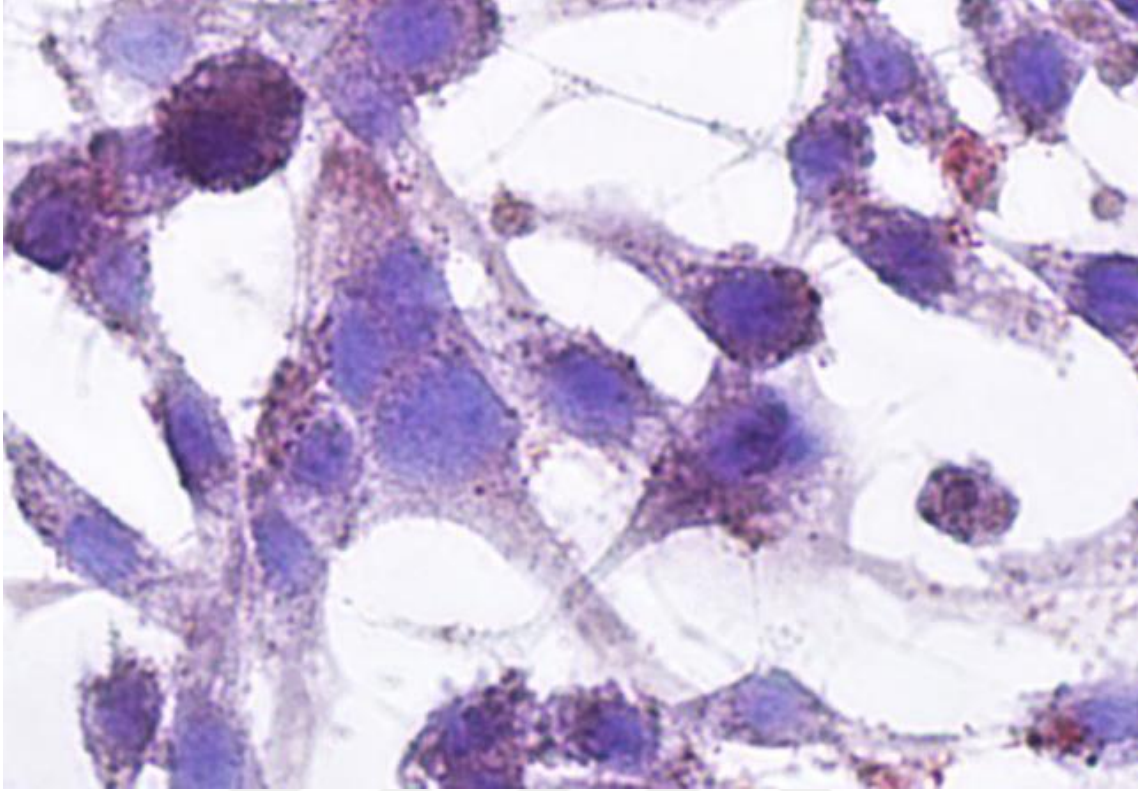
Şekil 4.2.16. Ani-AKH-10 grubunun BDNF immünohistokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.



Şekil 4.2.17. Ani-AKH-50 grubunun BDNF immünositokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 µm.



Şekil 4.2.18. Ani-AKH-50 grubunun BDNF immünohistokimya boyamasını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı. Sitoplazmasında vakuoller içeren hücreler (okbaşıları), piknotik hücreler (oklar). Bar 20 μ m.



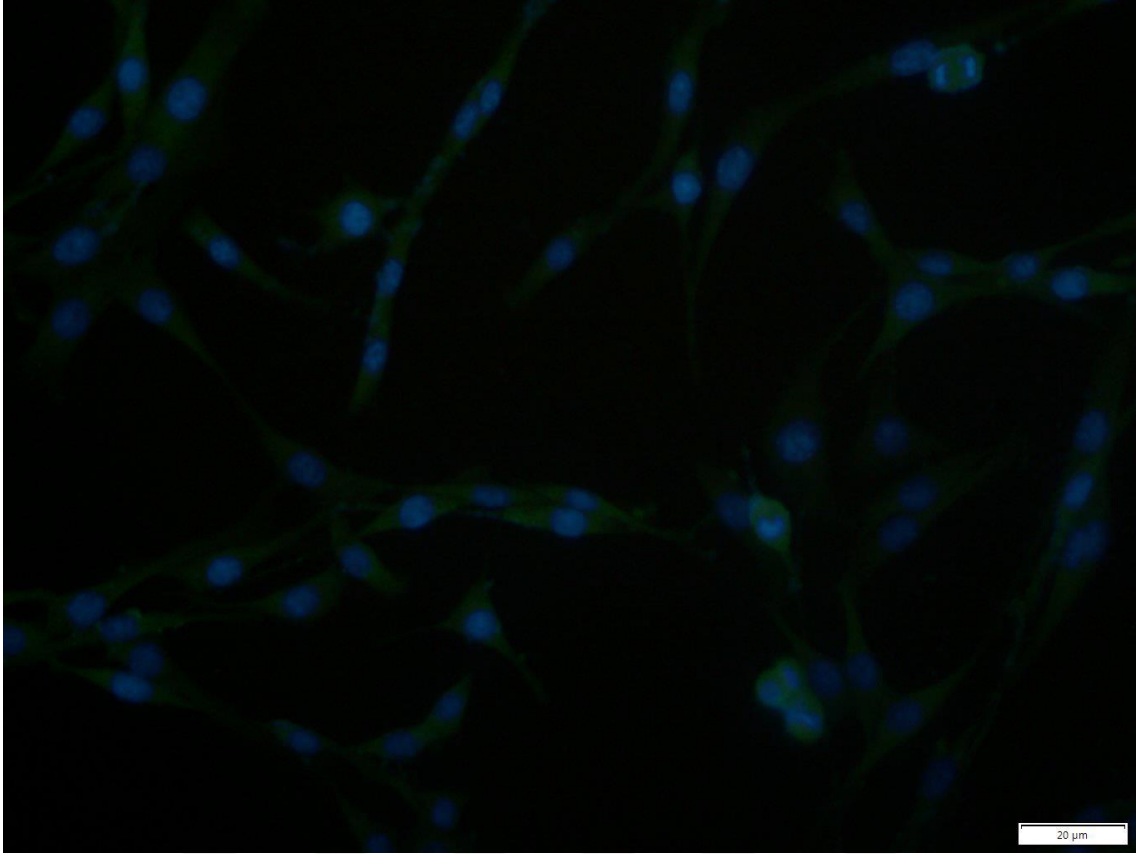
Şekil 4.2.19. Ani-AKH-50 grubunun BDNF immünohistokimya boyamasının ayrıntısını gösteren ışık mikroskobu fotoğrafı.

4.3. BDNF İMMÜNFLORESAN BOYAMASI

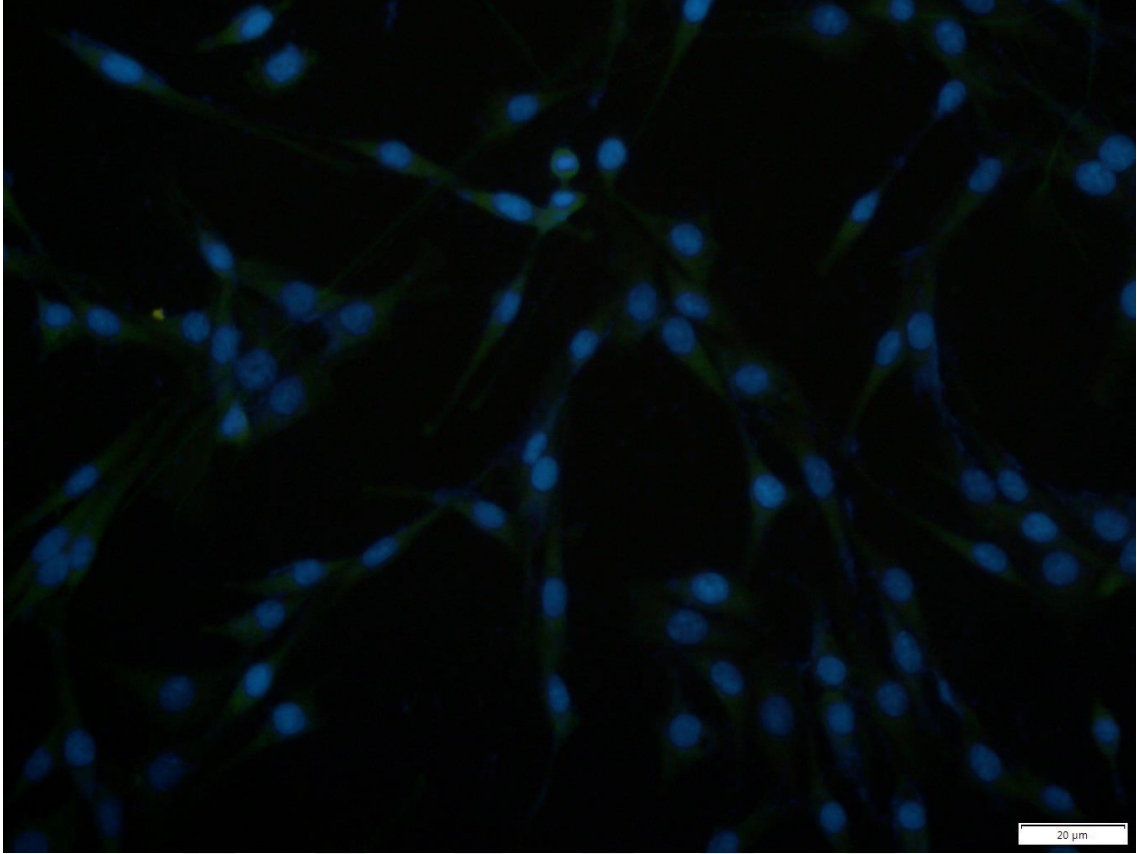
Konrol (Şekil 4.3.1), klozapin (Şekil 4.3.2), haloperidol (Şekil 4.3.3), Ani-AKH-5, (Şekil 4.3.4) Ani-AKH-10 (Şekil 4.3.5) ve Ani-AKH-50 (Şekil 4.3.6) gruplarının BDNF immünfluoresan boyamasıyla yapılan boyamaları immünohistokimya boyanma şiddeti ile paralel gözlemlendi.



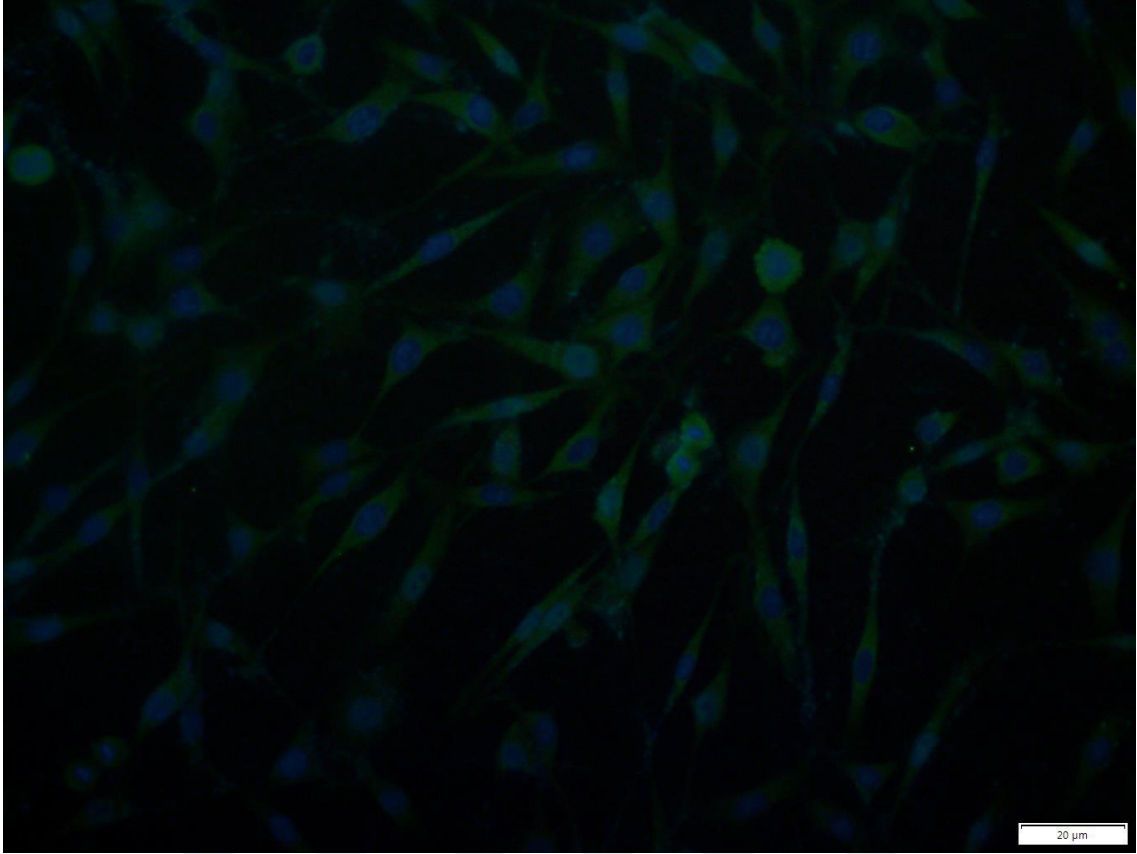
Şekil 4.3.1. Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. x40 büyütme. Bar 20 µm.



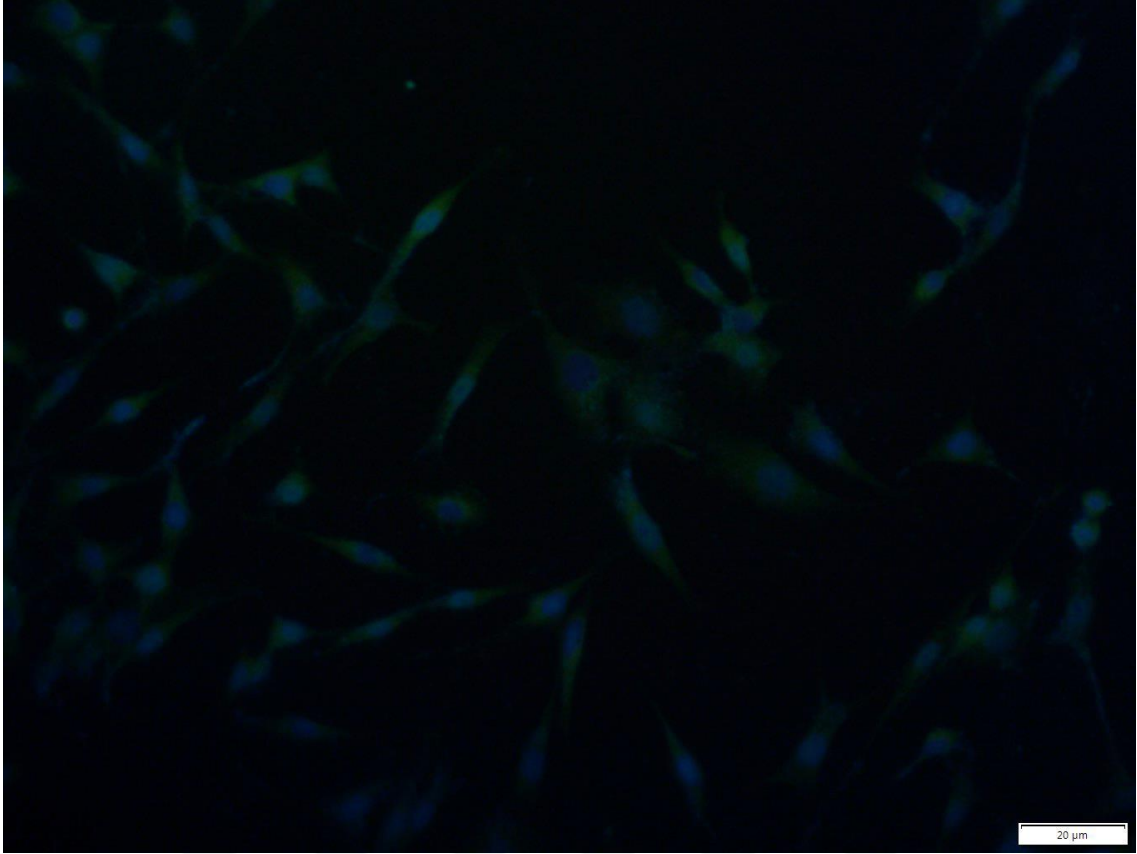
Şekil 4.3.2. Klozapin grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immü floresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 μ m.



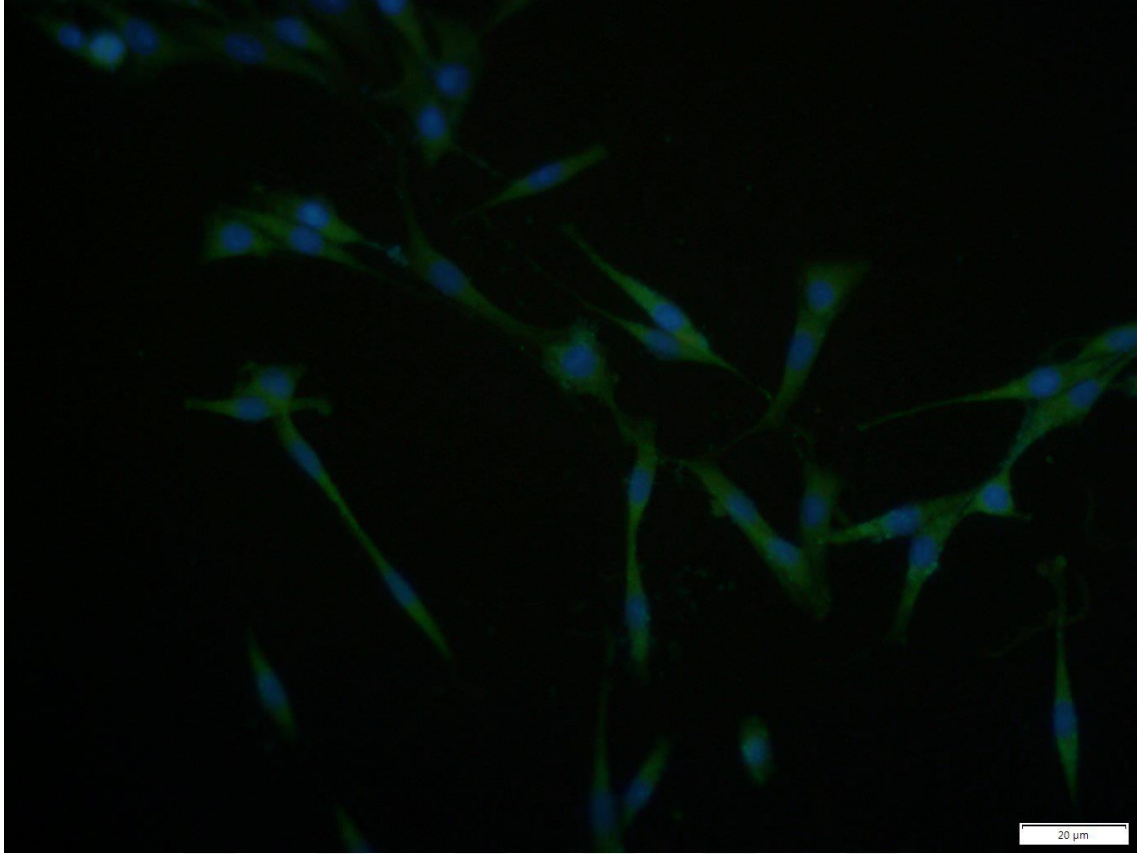
Şekil 4.3.3. Haloperidol grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 μ m.



Şekil 4.3.4. Ani-AKH-5 grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 µm.



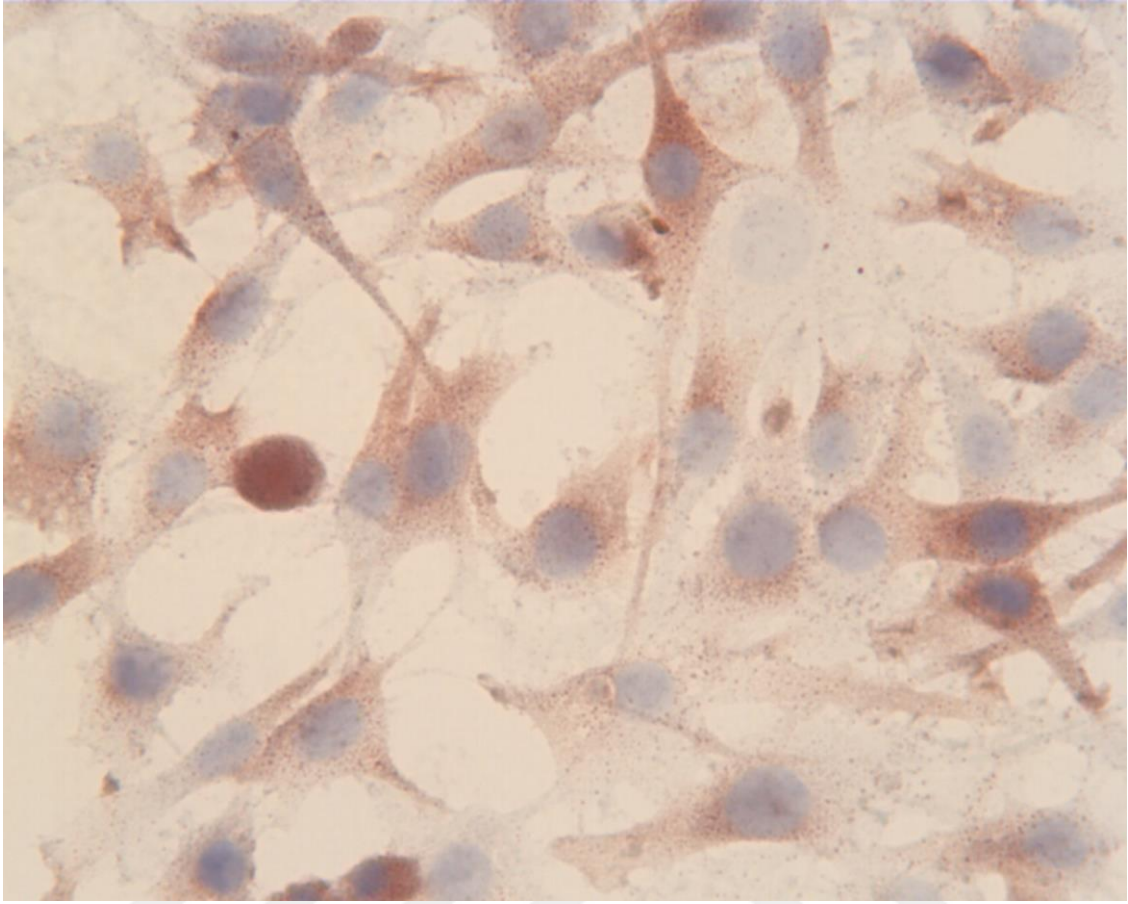
Şekil 4.3.5. Ani-AKH-10 grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immü floresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 μm.



Şekil 4.3.6. Ani-AKH-50 grubu C6 glioma hücrelerinin BDNF immünfloresan boyamasına ait fotoğraf. Bar 20 μ m.

4.4. GFAP İMMÜNOSİTOKİMYASAL BOYAMASI

Astrosit işaretleyicisi GFAP antikoruna ile kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin immünositokimya boyamasına bakıldığında hücrelerin GFAP-pozitif boyanmış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.4.1).



Şekil 4.4.1. Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin GFAP immünositokimya boyamasına ait ışık mikroskobu fotoğrafı. x40 büyütme.

4.5. ELEKTRON MİKROSKOBU BULGULARI

Kontrol, klozapin, haloperidol, Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 gruplarının elektron mikroskobunda ultrastrüktürü incelendi ve değerlendirildi. Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin elektron mikroskobunda belirgin 1-3 nukleolus içeren, ovale yakın şekilli ve birkaç invajinasyon içeren ökromatik çekirdeklere sahip olduğu gözlemlendi. Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin sitoplazmalarında, ribozomlar, endoplazmik retikulum sisternaları, mitokondriyumlar ve az miktarda vakuol gözlemlendi (Şekil 4.5.1 ve 4.5.3). Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin yüzeyinde mikrovillullara benzeyen kısa ve küçük çıkıntılar (filopodlar) mevcuttu (Şekil 4.5.1). Kontrol grubu C6 glioma hücrelerinin tipik morfolojisini gösteren hücrelerinin yanında sitoplazmasında otofajik vakuolle dolu olan az sayıda otofajik hücreler de gözlemlendi (4.5.2).

Klozapin grubunda, kondanse ve dış hatları düzensiz, çıkıntılar (lobüler nükleus) ve derin girintiler (nuclear invagination) içeren nükleusa sahip C6 glioma hücreleri

gözlendi (Şekil 4.5.4 ve Şekil 4.5.6). C6 glioma hücrelerinin yüzeyindeki filopod sayısında azalma ve yuvarlak çıkıntılar şeklindeki tomurcuklanmada (bleb) ise artış gözlendi (Şekil 4.5.5). Klopapin grubunun C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında çeşitli organellerin dejenerasyonu sonucu debrisle dolu, inklüzyon partikülleri içeren çok sayıda ve büyük çaplı otofajik vakuoller (Av, otofagozom) gözlendi (Şekil 4.5.4). Sitoplazmalarında çok sayıda vakuolün biraraya gelerek kümeler oluşturduğu gözlendi (Şekil 4.5.6).

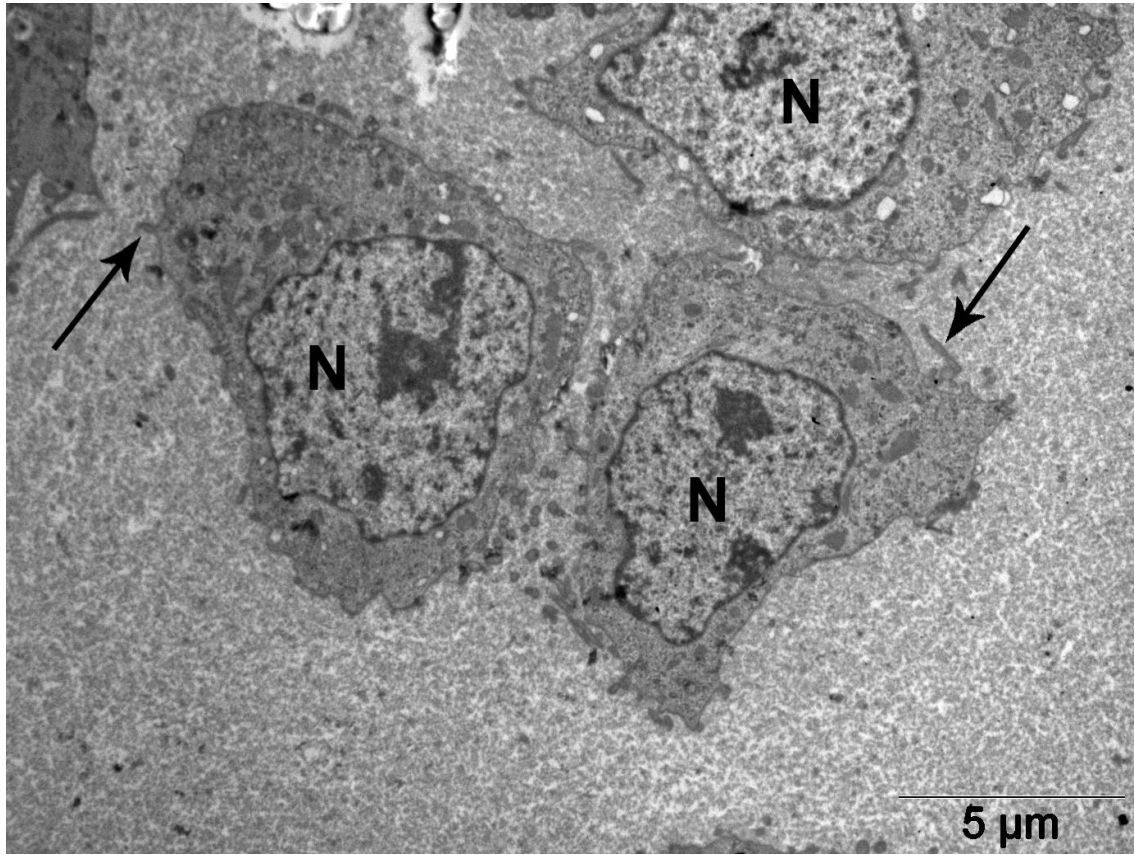
Haloperidol grubunda da klopapin grubunda olduğu gibi kondanse ve lobüler nükleuslar içeren C6 glioma hücreleri gözlendi (Şekil 4.5.7 ve Şekil 4.5.8). C6 glioma hücrelerinin yüzeyindeki filopod sayısında azalma ve tomurcuklanmada ise artış gözlendi (Şekil 4.5.8). Haloperidol grubunun C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında çok sayıda otofajik vakuol ve vakuol kümeleri gözlendi (Şekil 4.5.9).

Ani-AKH-5 grubunun C6 glioma hücrelerinin, belirgin nükleolus içeren, oval ve ovale yakın ökromatik çekirdeklere sahip olduğu gözlendi (Şekil 4.5.10). Ani-AKH-5 grubunun C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında, az sayıda küçük çaplı vakuoller, ribozom, endoplazmik retikulum sisternaları ve mitokondriyumlar gözlendi (Şekil 4.5.12). Ani-AKH-5 grubunun C6 glioma hücrelerinin yüzeyinde uzun ve çok sayıda filopodlar mevcuttu (Şekil 4.5.10 ve Şekil 4.5.11). Ani-AKH-5 grubunun C6 glioma hücrelerinin nispeten az sayıda otofajik vakuol ve hücre tomurcuklanması içerdiği gözlendi (Şekil 4.5.12). Ani-AKH-5 grubunun C6 glioma hücrelerinde filopodların ucunda farklı sayıda veziküller içeren, migrazom organelleri saptandı (Şekil 4.5.11 ve Şekil 4.5.12).

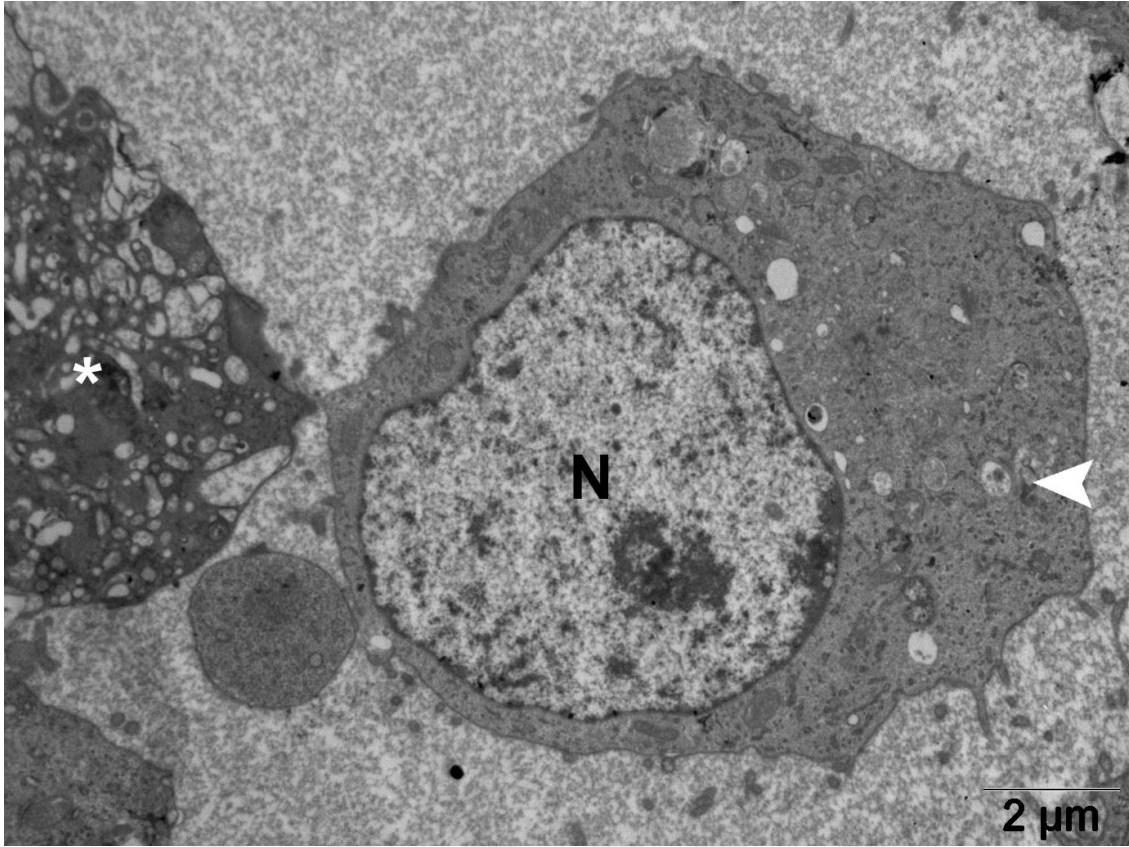
AKH-10 grubunun C6 glioma hücrelerinin, belirgin nükleolus içeren, oval ve ovale yakın ökromatik çekirdeklere sahip olduğu gözlendi (Şekil 4.5.13, Şekil 4.5.15 ve Şekil 4.5.16). Ani-AKH-10 grubunun C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında, vakuoller, ribozomlar, endoplazmik retikulum sisternaları ve mitokondriyumlar gözlendi (Şekil 4.5.12). Ani-AKH-10 grubunun C6 glioma hücrelerinin nispeten az sayıda ve küçük çaplı otofajik vakuoller, kısa ve az sayıda filopodlar ve hücre tomurcuklanması içerdiği görüldü (Şekil 4.5.14 ve Şekil 4.5.16). Ani-AKH-10 grubunun C6 glioma hücrelerinde filopodların ucunda farklı sayıda veziküller içeren çeşitli büyüklüklerde migrazom organelleri saptandı (Şekil 4.5.14 ve Şekil 4.5.15).

Ani-AKH-50 grubunun C6 glioma hücrelerinde, belirgin nükleolusa sahip ovale yakın nükleuslar veya kondanse olmuş girintili veya şekilsiz nükleuslar gözlendi (Şekil

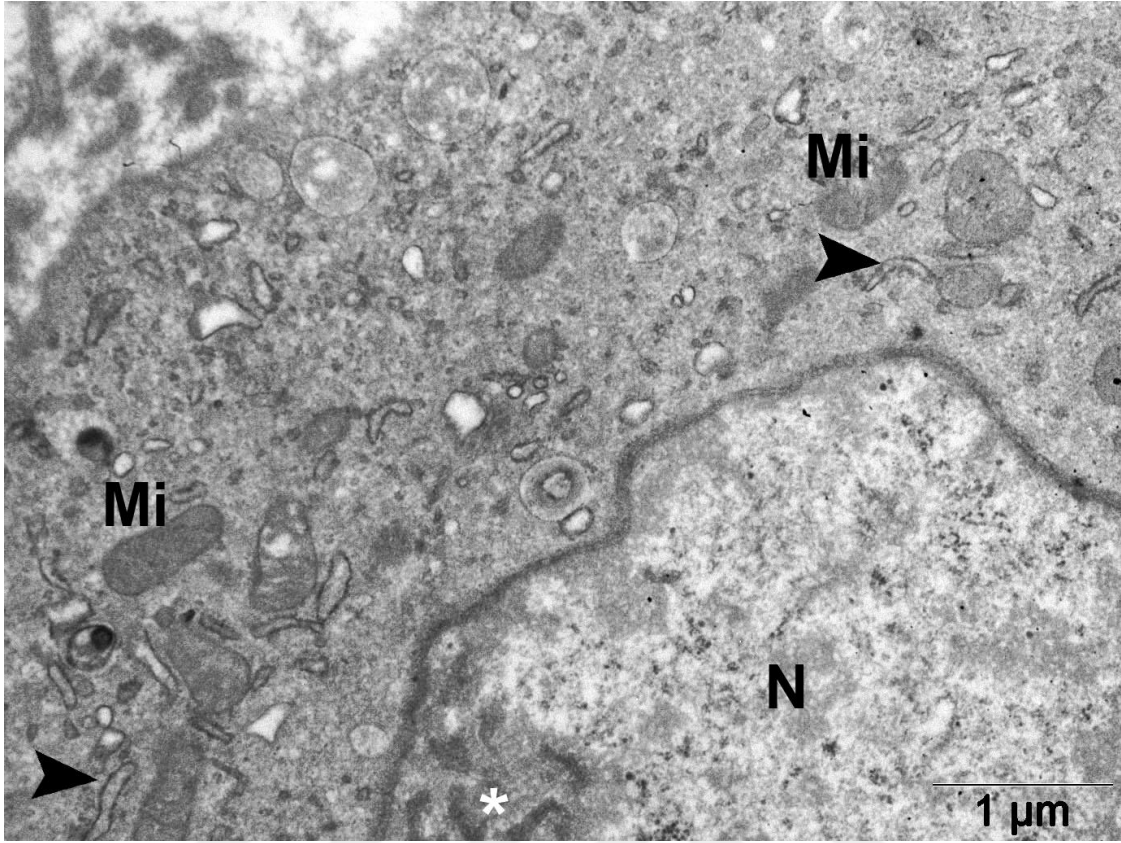
4.5.17 ve Şekil 4.5.18). Ani-AKH-50 grubunun C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında, orta ve büyük çaplı vakuoller, ribozomlar, endoplazmik retikulum sisternası ve mitokondriyumlar gözlemlendi (Şekil 4.5.19). Ani-AKH-5 grubunun C6 glioma hücrelerinin yüzeyinde nispeten az sayıda filopod mevcuttu. Ani-AKH-50 grubunun C6 glioma hücrelerinin sitoplazmasında, muhtemelen küçük vakuollerin birleşmesiyle oluşan dev otofajik vakuoller gözlemlendi (Şekil 4.5.18 ve Şekil 4.5.19). Ani-AKH-50 grubunun C6 glioma hücrelerinde migrazom organelleri saptanmadı.



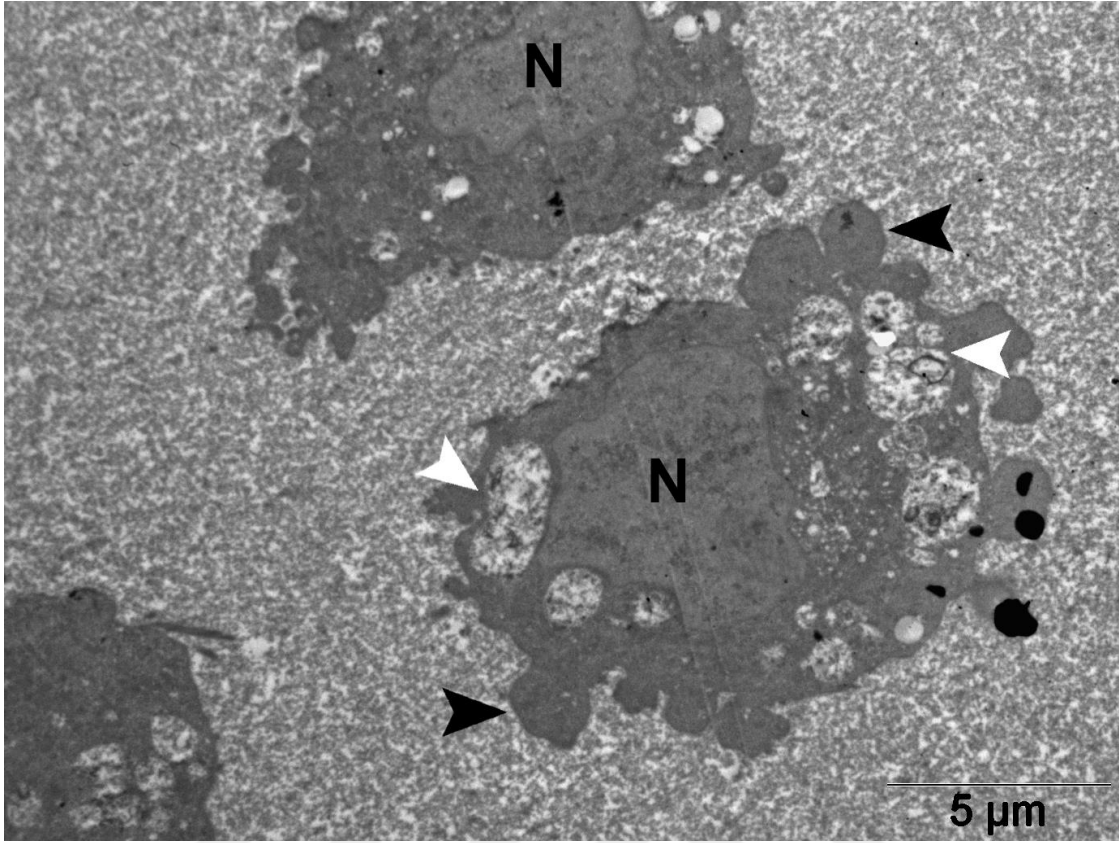
Şekil 4.5.1. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin yüzeyinde filopodlar görülmektedir. Nükleus (N), filopod (ok).



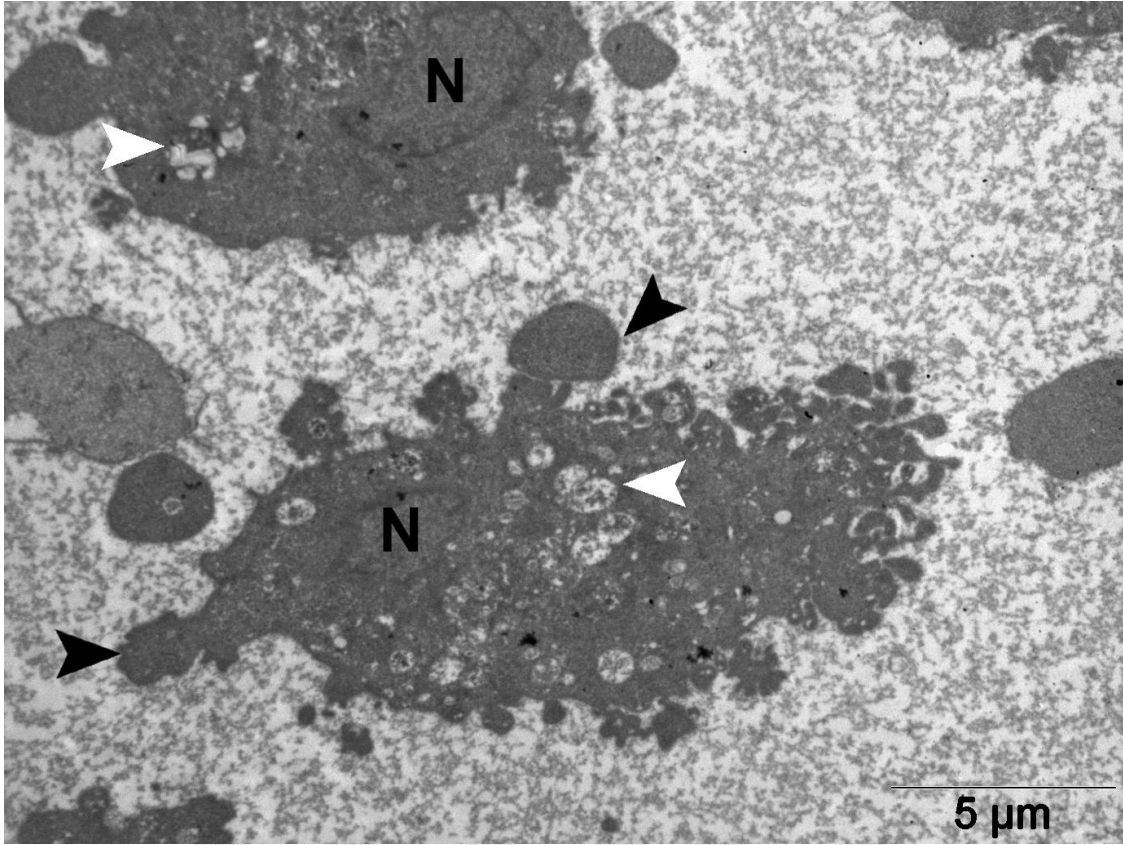
Şekil 4.5.2. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, normal ve dejeneratif (asterisk).C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N) ve vakuol (okbaşı).



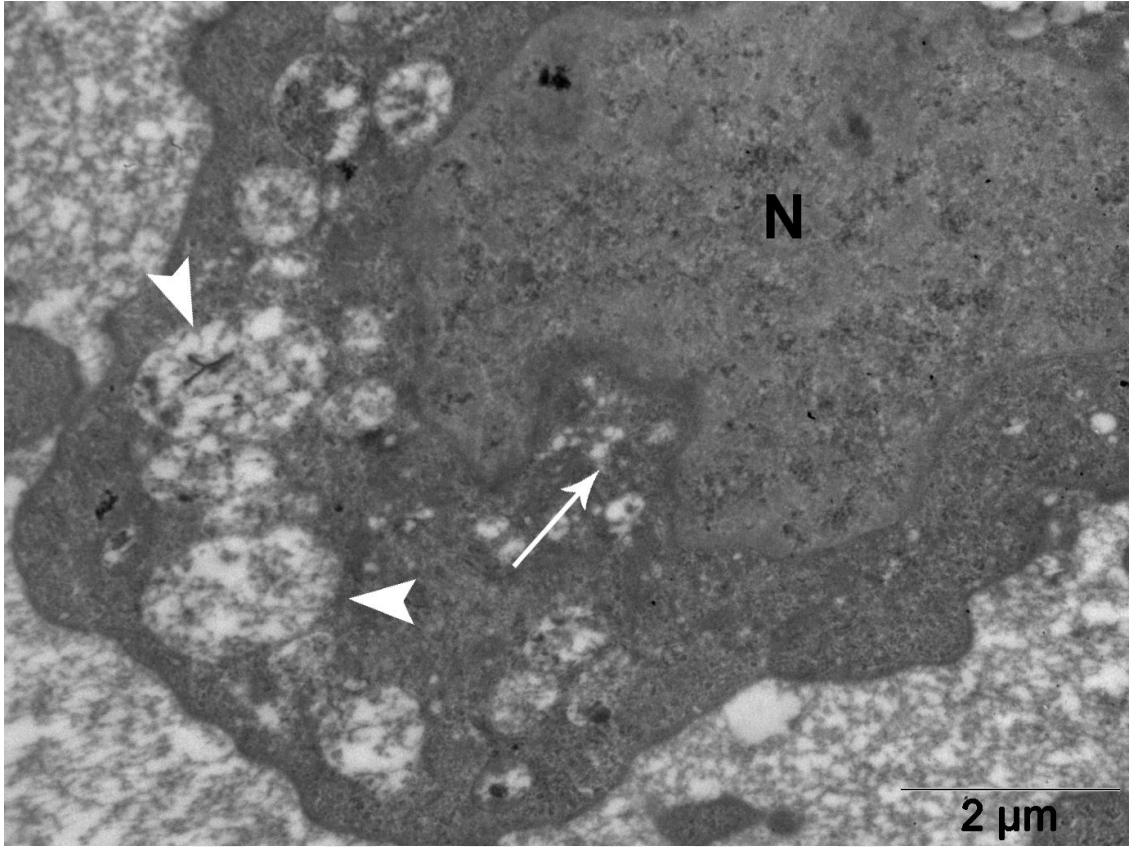
Şekil 4.5.3. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin sitoplazmasında, endoplazmik retikulum sisternası (okbaşları) ve mitokondriyumlar (Mi) görülmektedir. Nükleus (N) ve nukleolus (beyaz asterisk).



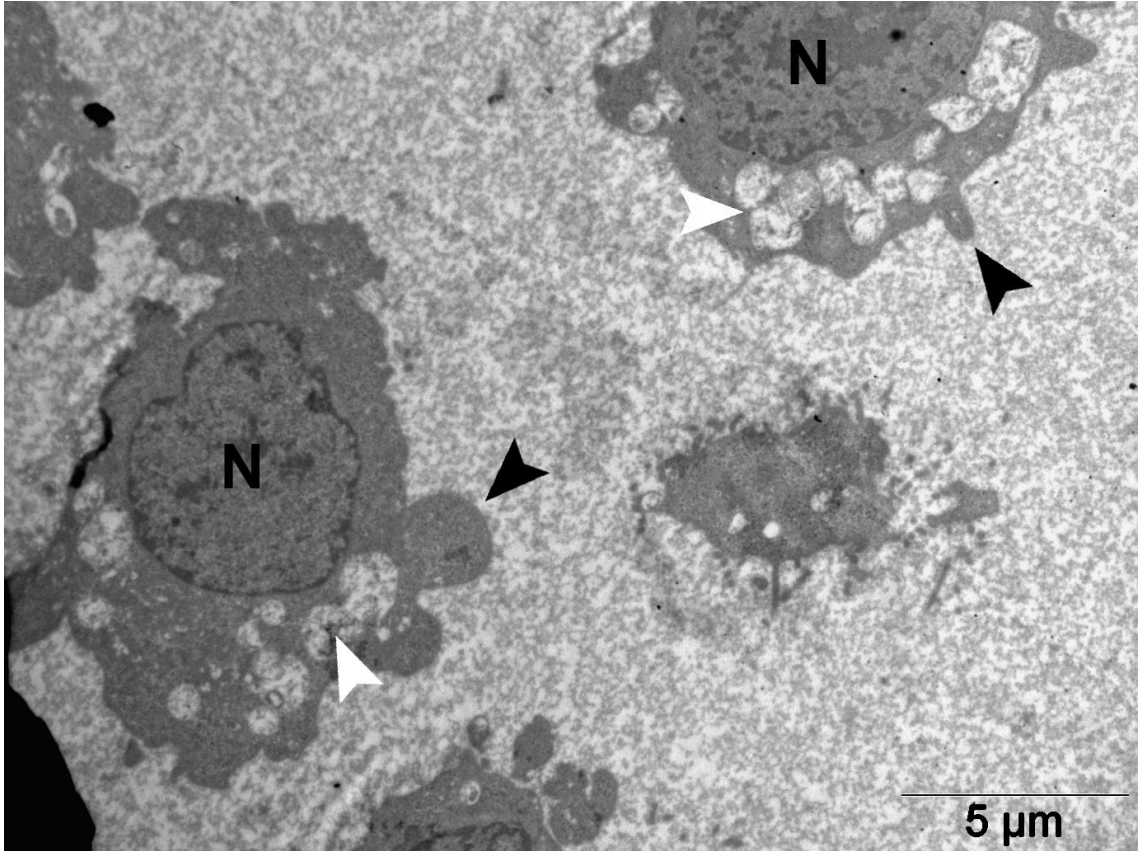
Şekil 4.5.4. Klozapin grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşları), tomurcuklanmalar (siyah okbaşları).



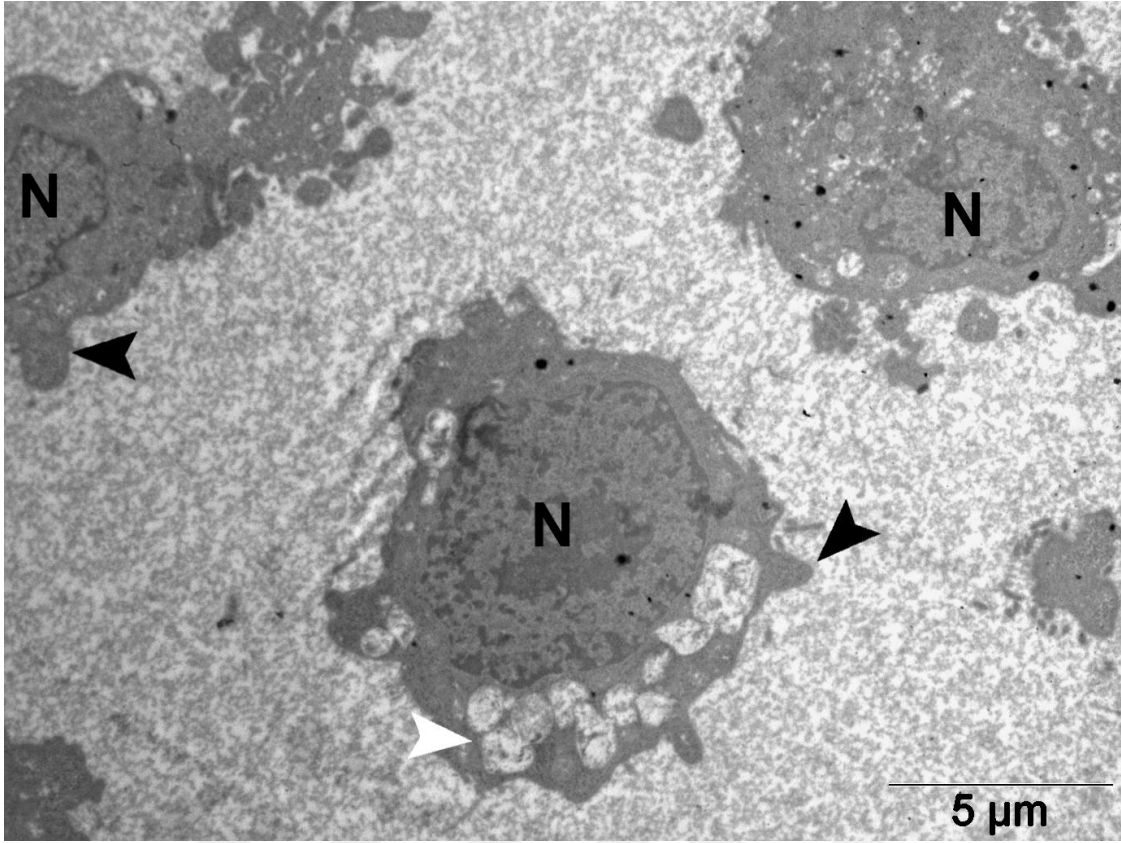
Şekil 4.5.5. Klozapin grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Kondense nükleuslar (N), vakuoller (beyaz okbaşları) ve hücre tomurcuklanmaları (siyah okbaşları).



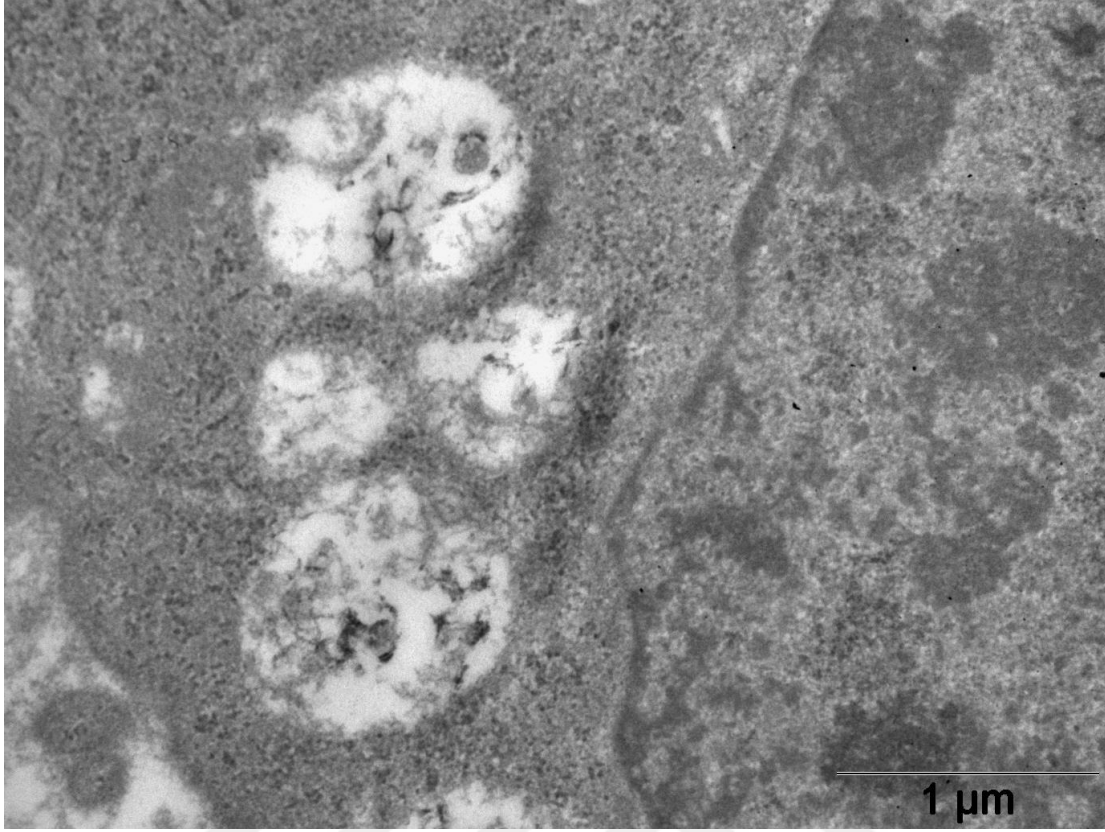
Şekil 4.5.6. Klorzapin grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin sitoplazmasında bir araya gelerek kümeler oluşturan çok sayıda büyük vakuoller (okbaşları) ve nükleus invajinasyonu (beyaz ok) görülmektedir.



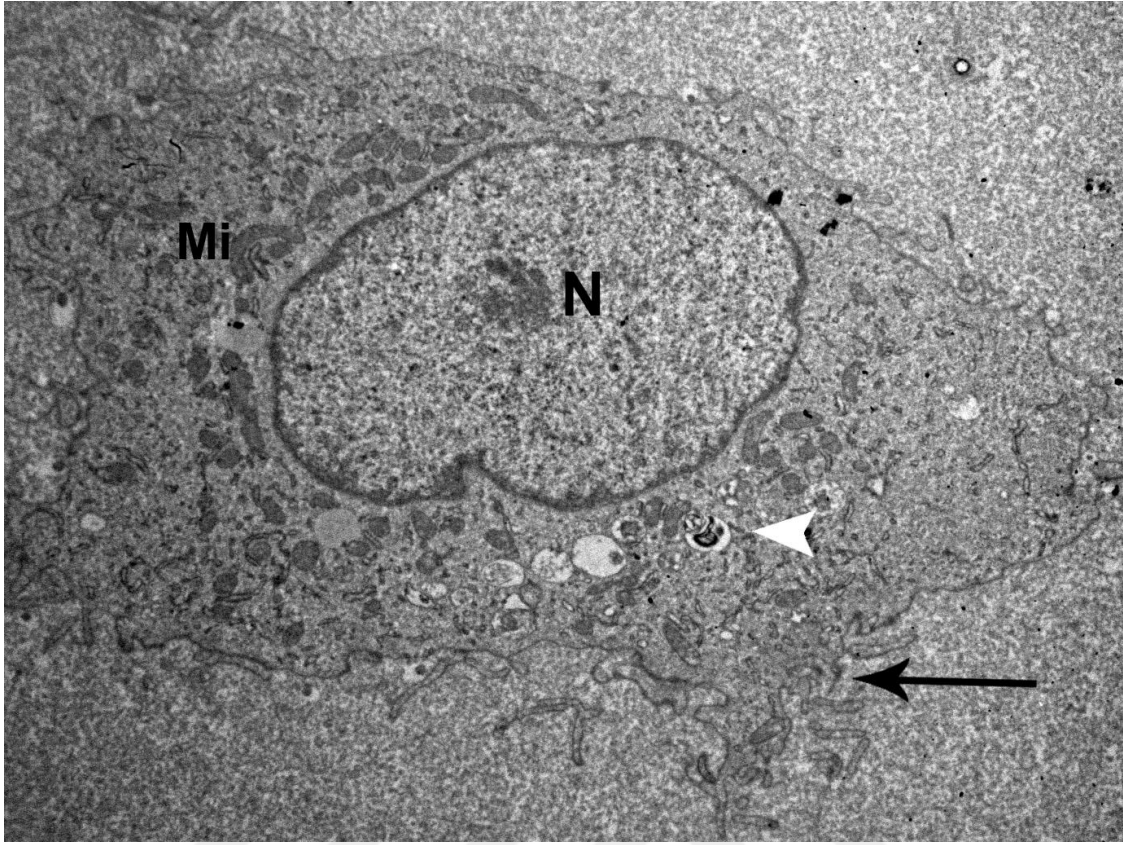
Şekil 4.5.7. Haloperidol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşıları) ve hücre tomurcuklanmaları (siyah okbaşıları).



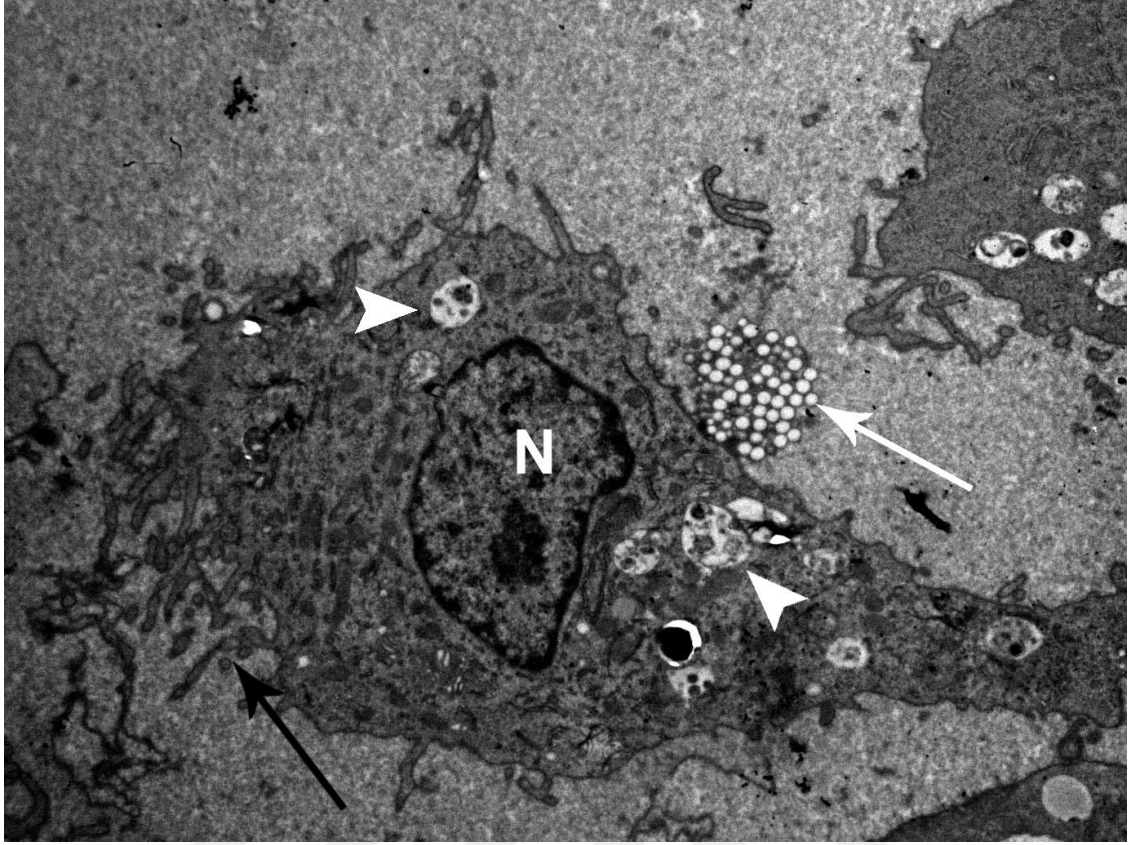
Şekil 4.5.8. Haloperidol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, dejeneratif hücre morfolojisi gösteren C6 glioma hücrelerinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşları), hücre tomurcuklanmaları (siyah okbaşları).



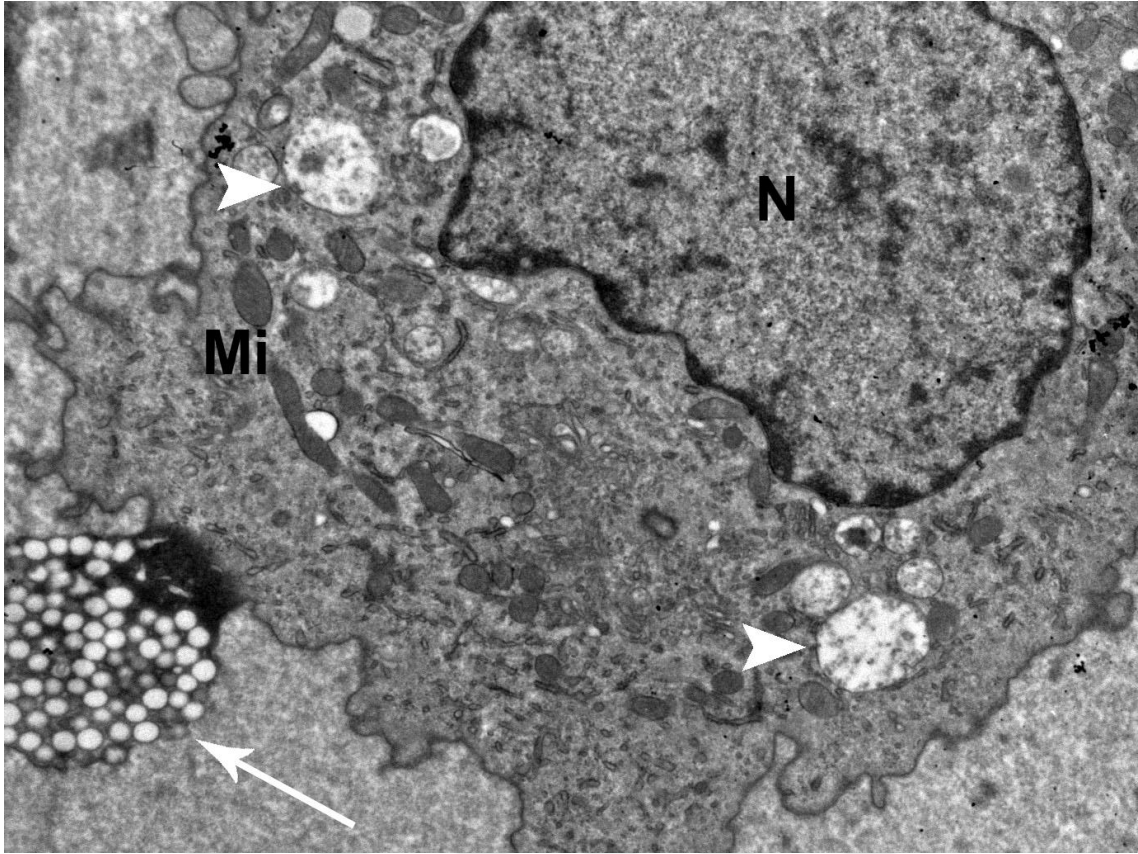
Şekil 4.5.9. Haloperidol grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin sitoplazmasında çok sayıda otofagozom görülmektedir.



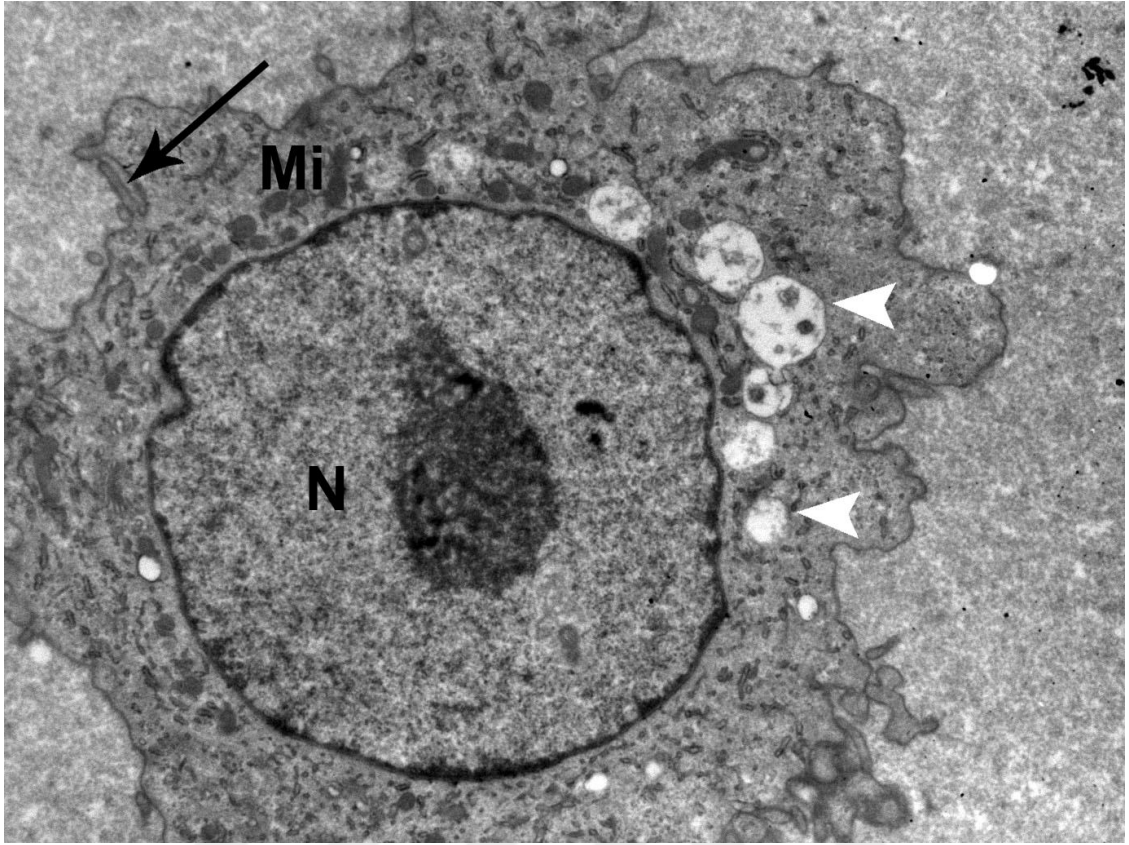
Şekil 4.5.10. Ani-AKH-5 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinde, nükleus (N), çok sayıda mitokondriyum (Mi), az sayıda vakuol (beyaz okbaşı), ve filopodlar (siyah okbaşı) görülmektedir.



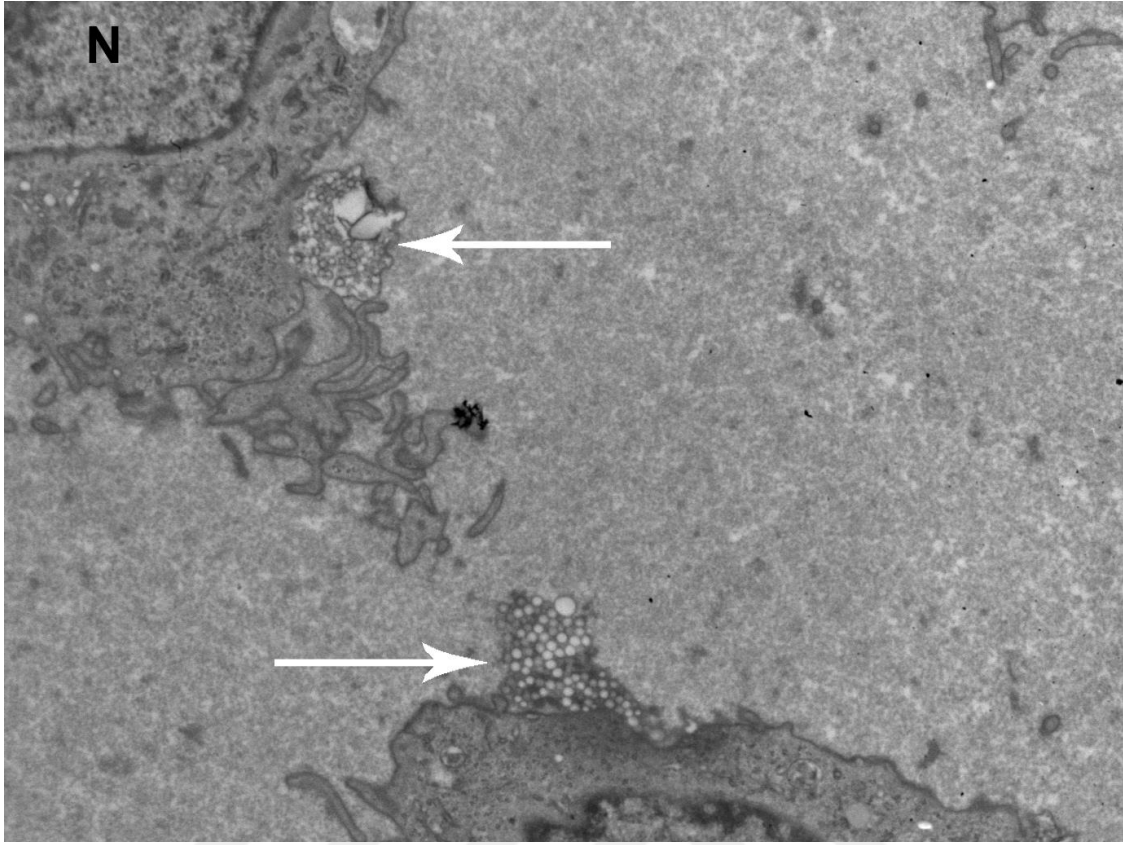
Şekil 4.5.11. Ani-AKH-5 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), vakuoller (beyaz okbaşları), filopodlar (siyah ok) ve migrazom (beyaz ok) görülmektedir.



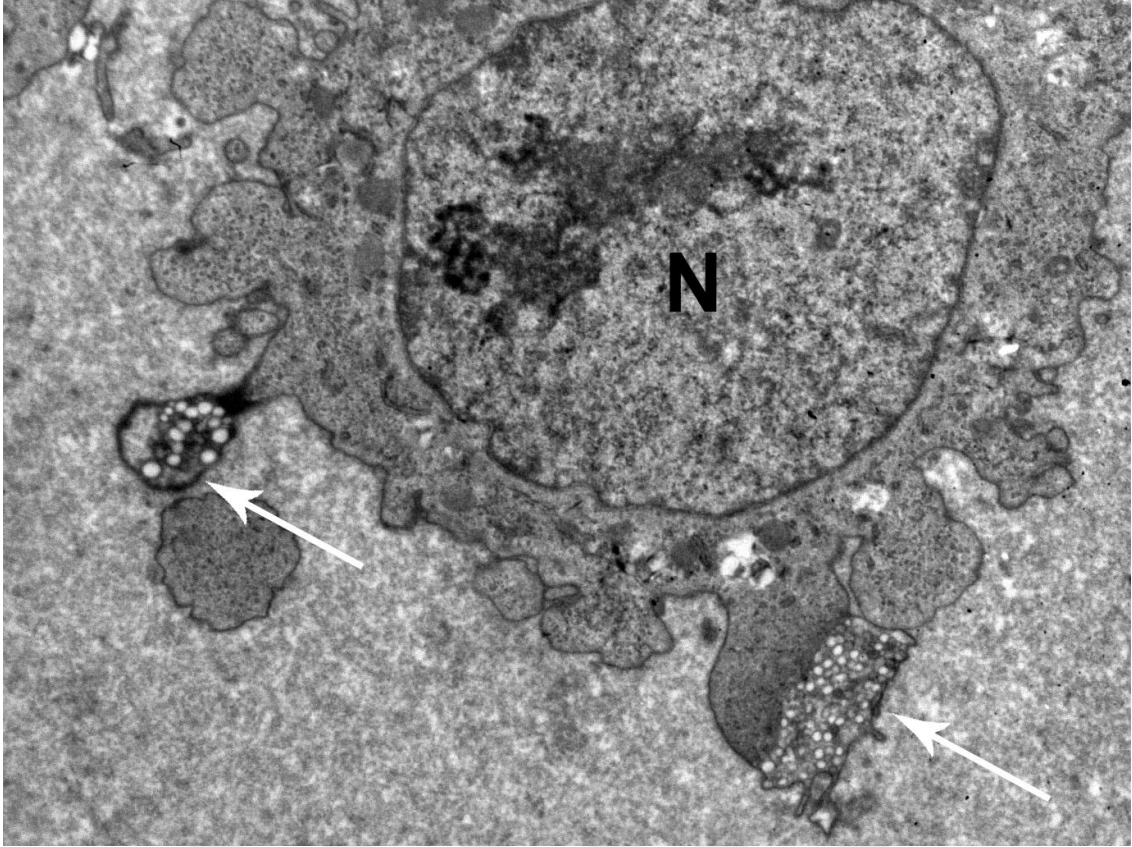
Şekil 4.5.12. Ani-AKH-5 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), mitokondriyum (Mi), vakuoller (beyaz okbaşları) ve migrasom (beyaz ok) görülmektedir.



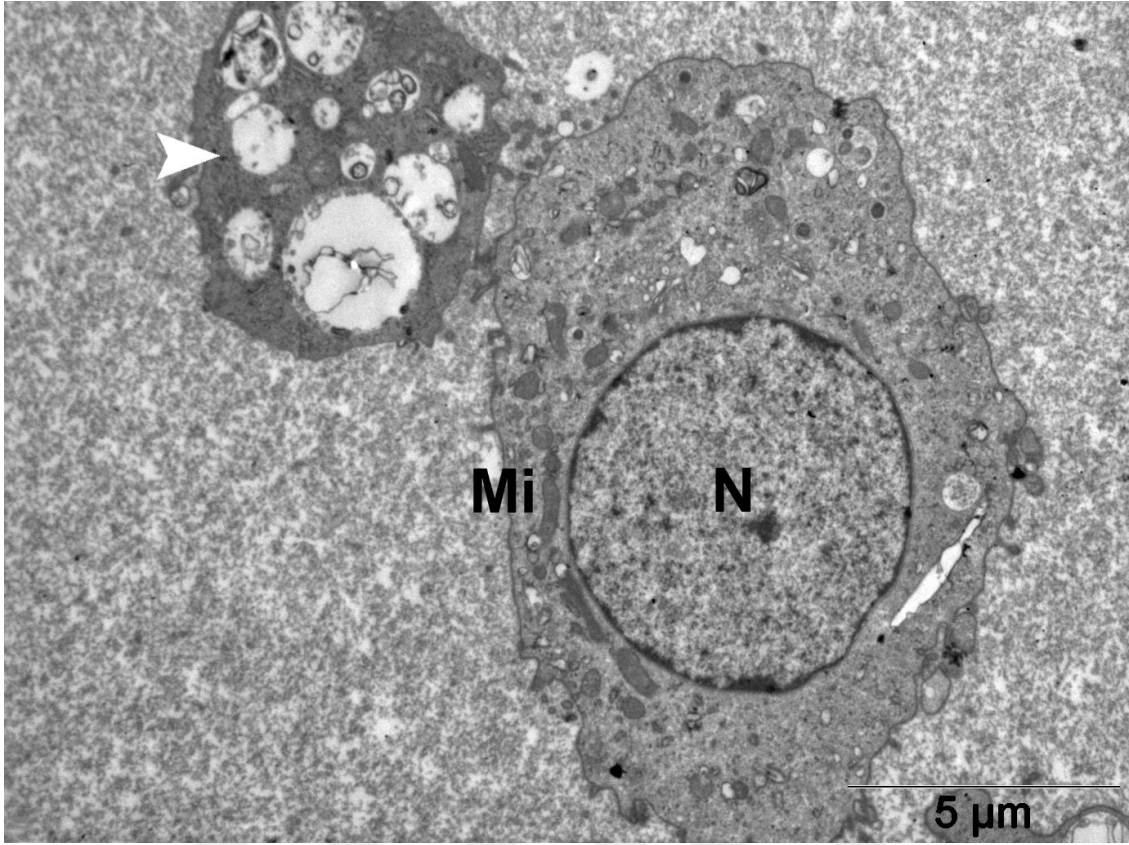
Şekil 4.5.13. Ani-AKH-10 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin nükleusu (N), mitokondriyumlar (Mi) vakuoller (beyaz okbaşıları) ve hücre yüzeyinde az sayıda filopod (ok) görülmektedir.



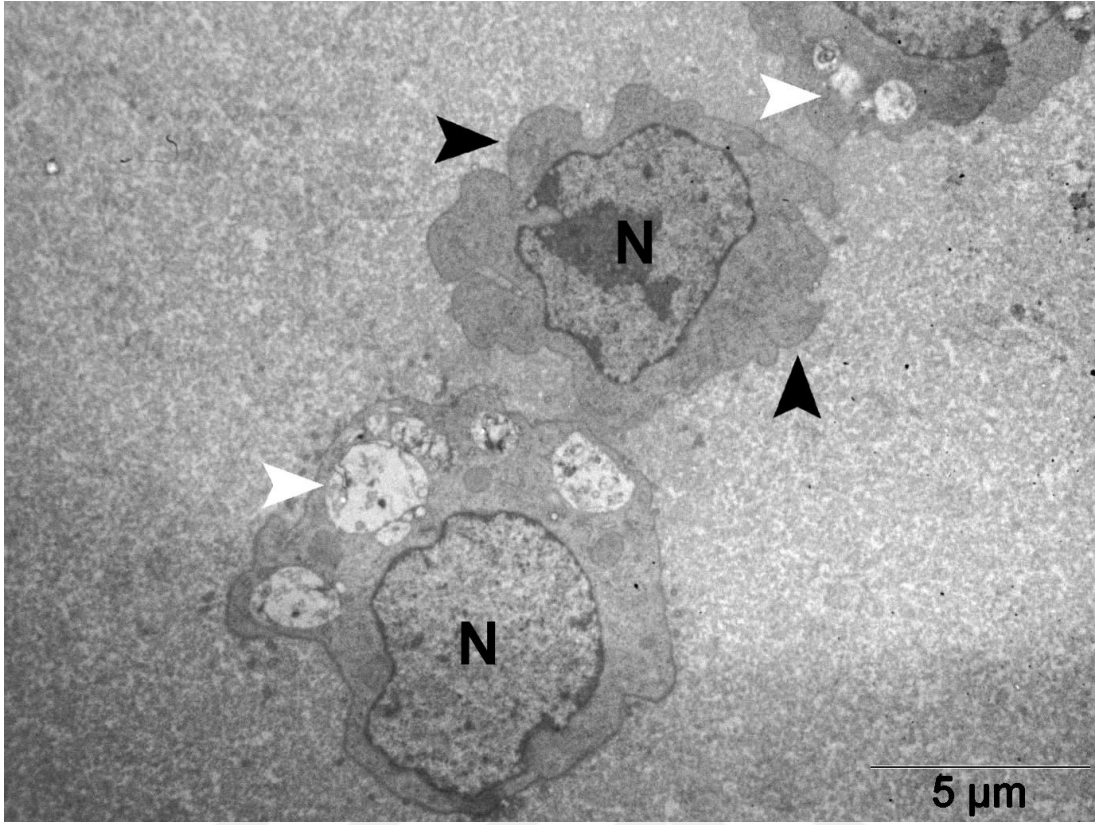
Şekil 4.5.14. Ani-AKH-10 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin genel ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N), ve migrazomlar (beyaz oklar) görülmektedir.



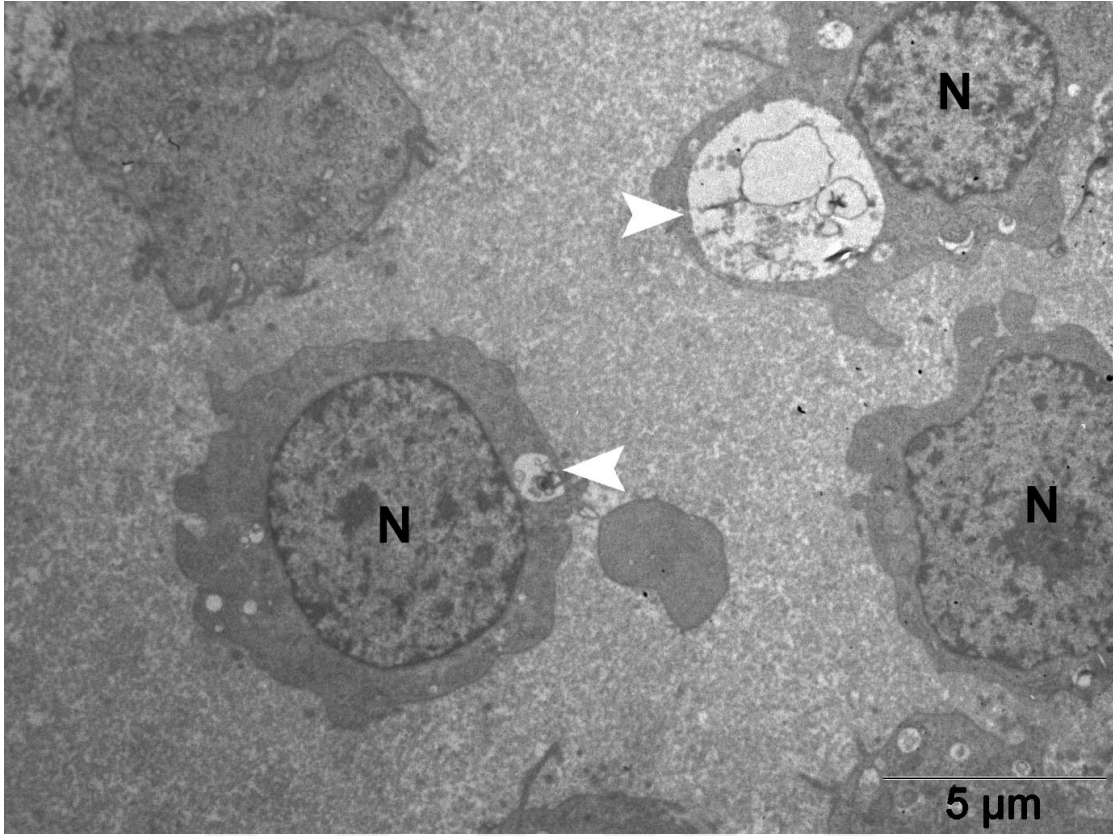
Şekil 4.5.15. Ani-AKH-10 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin genel ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N) ve migrazomlar (beyaz oklar) görülmektedir.



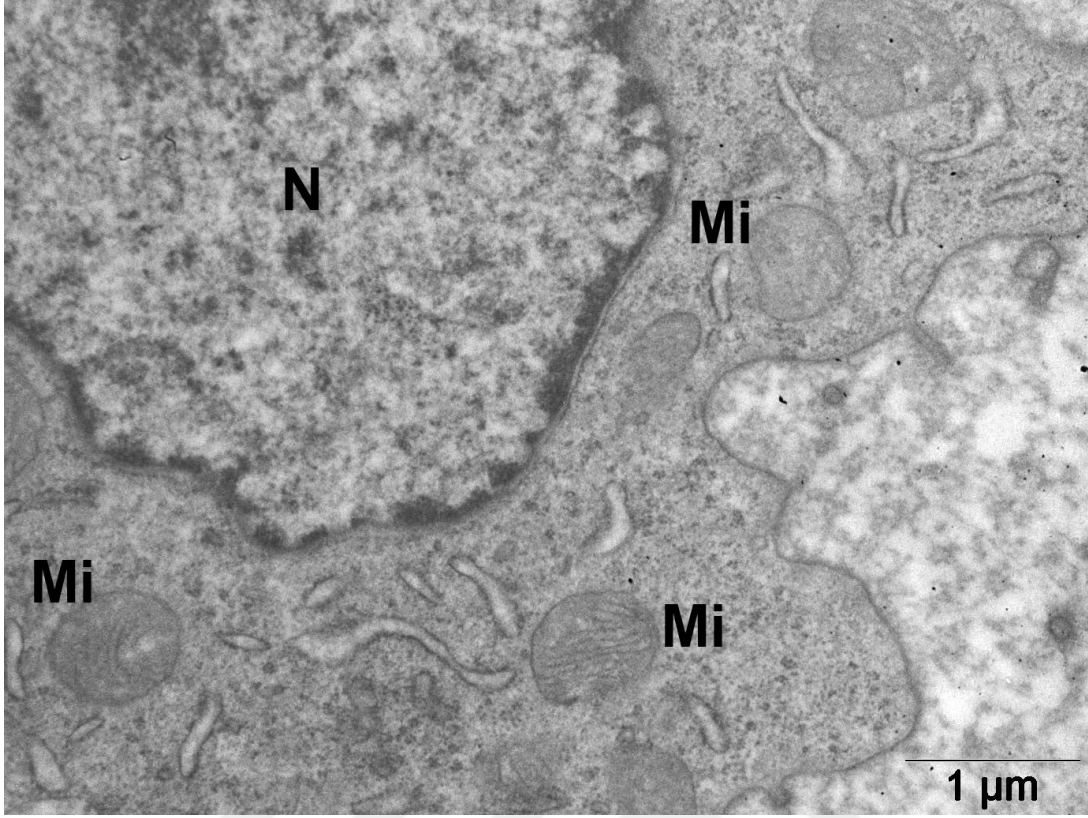
Şekil 4.5.16. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleusu (N). Mitokondriyumlar (Mi) az sayıda vakuol ve filopod içeren hücrenin yanında otofajik vakuollerle dolu hücre kalıntısı görülmektedir.



Şekil 4.5.17. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin genel ultrastrüktürü görülmektedir. Sitoplazmasında büyük vakuoller içeren C6 hücresi ile kondanse nükleus ve tomurcuklanmalar içeren C6 hücresi görülmektedir. Nükleusu (N), (beyaz okbaşı), vakuoller (beyaz okbaşıları) ve tomurcuklanmalar (siyah okbaşıları).



Şekil 4.5.18. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücrelerinin genel ultrastrüktürü görülmektedir. Nükleus (N). Otofajik vakuoller (beyaz okbaşıları).



Şekil 4.5.19. Ani-AKH-50 grubuna ait elektron mikroskobu fotoğrafında, C6 glioma hücresinin nükleusu (N), sitoplazmasında mitokondriyumlar (Mi) ve endoplazmik retikulum sisternası görülmektedir.

5. TARTIŞMA

BDNF, nöronlarının gelişimi ve yaşamasında (8, 56, 178), dendritlerin büyümesinde ve sinaptik plastisitede (179, 180) rol oynamaktadır. BDNF ekspresyonu fizyolojik olaylarda ve patolojik durumlarda değişmektedir. BDNF'nin sentezindeki yetersizliğin ya da bozukluğun, nörolojik ve nörodejeneratif hastalıklara yatkınlığı arttırdığına dair çalışmalar bulunmaktadır (1, 10, 11).

Araştırmalar, BDNF 'nin şizofreni hayvan modellerinde plazma ve CSF 'de ve şizofreni hastalarının postmortem beyinlerinde azalarak, anormal şekilde düzenlendiğini göstermektedir (181-183). Bu nedenle, nörotrofik bir faktör olan BDNF' nin artırılması şizofreni gibi psikiyatrik durumlar için yeni bir tedavi yaklaşımı olabilir (1). Son çalışmalar, nöroleptik ilaçların etkisinin sadece nörotransmitterler üzerinde değil, nörotrofik faktörler aracılığıyla da düzenleyici etkiye aracılık ederler. Çeşitli çalışmalar hem şizofreni deneklerinde hem de şizofreni hayvan modellerinde antipsikotiklerin BDNF seviyeleri üzerindeki farklı etkilerini bildirmiştir (184-186).

Józwiak-Bębenista ve arkadaşları, antipsikotik ilaçların, monoaminerjik nörotransmisyonun düzenlenmesine ek olarak beyindeki nörotrofik faktörlerin ekspresyonunu da etkileyebileceğini öne sürmüşlerdir. Çalışmalarında astrosit benzeri glioblastoma hücre hattı (T98G) 'da, birinci kuşak (haloperidol) ve ikinci kuşak (olanzapin ve amisülpirid) nöroleptik ilaçların BDNF ekspresyonu üzerindeki etkilerini incelenmişlerdir. RtPCR tekniğini kullanarak, test edilen üç nöroleptikten hem haloperidol hem de olanzapinin (20 μ M 'de değil fakat 5 μ M konsantrasyonda), 72 saat inkübasyondan sonra benzer bir etkinlikle BDNF mRNA ekspresyonunu artırdığını göstermişlerdir (1).

Şizofreni dünya nüfusunun yaklaşık % 0,5-1 'ini etkileyen nöropsikiyatrik bir bozukluktur. Hastalık, en önemli insan özelliklerinden; konuşma, düşünce, algılama, davranış ve benlik duygusunu etkileyen, bilişseş ve duygusal kopuklukla karakterizedir (187). Şizofreninin patofizyolojisi hala net değildir; nöron gelişimi süreçleri bozan, karmaşık genetik ve çevresel etkileşimleri içerir. Nöron gelişimi ve korunmasında önemli rol oynayan nörotrofin fonksiyonunda bozulmaların, hastalığın etiyolojisine etkisi olabileceği öne sürülmüştür. Şizofreni hastasında BDNF, tüm sinyalizasyonu etkileyen bir nörotrofindir (188). BDNF, sinir sisteminin gelişiminde yer alan beyinde en bol bulunan nörotrofindir (189). BDNF 'nin iskemik (190, 191),

glutamerjik (192) ve hipoglisemik hasarlara (193) karşı olgun nöronları koruyarak sağkalımını arttırdığı gösterilmiştir.

Değişik antipsikotiklerin BDNF seviyeleri üzerindeki farklı etkileri, şizofreni hastalarında birinci kuşak nöroleptik ilaçlar (FGA'lar) ve ikinci kuşak antipsikotik ilaçlar (SGA'lar) için saptanan farklı tedavi edici etkileriyle ilişkili olabilir. Bununla beraber, nöronların yanı sıra, merkezi sinir sistemindeki diğer hücre tiplerinde mRNA ve protein seviyesinde, nöroleptikler tarafından BDNF'nin düzenlenmesi hakkında çok az bilgi mevcuttur. BDNF 'yi depolayabilen ve salgılayabilen glial hücrelerin, şizofreninin patofizyolojisine glial disfonksiyonla katkıda bulunabileceği öne sürülmüştür (194-196).

Antipsikotik ilaçlar farklı mekanizmalarla etki gösterir. Birinci kuşak nöroleptik ilaç olan haloperidol ile temsil edilen bir dopamine D₂-reseptör antagonistidir. BDNF'nin, antidepresan ilaç etki mekanizmasındaki rolü, beyin monoaminleri ile yakın ilişkisi nedeniyle öne sürülmüştür (197, 198). BDNF, serotonerjik nöronlar için güçlü bir trofik ajandır (199). İnsan çalışmaları, BDNF düzeylerinin depresyonda azaldığını ve antidepresanların uygulanmasıyla normaleştiğini göstermiştir (197, 200, 201). Kemirgenlerde yapılan araştırmalarda da BDNF'nin stres ile azaldığı ve kronik antidepresan tedavisinin, hipokampusda BDNF ekspresyonunu artırarak, stresin etkilerini ortadan kaldırabildiğini gösterilmiştir (179, 198, 202). Hatalı BDNF sentezine sahip transgenik farelerde ise önceki çalışmalarla uyumlu şekilde antidepresan ilaçlara yanıtta başarısız olduğu gösterilmiştir (203-205). Son olarak, depresyon teşhisi ile intihar eden kişilerin beyinde BDNF mRNA seviyeleri düşük bulunmuştur (206-208).

Bu bulgular, BDNF artışının, antidepresan tedavisinin etkinliği için, çok önemli bir faktör olduğunu göstermektedir. Glial hücrelerin BDNF 'yi depolayıp, salgılaması da depresyon ve BDNF ilişkisinde önemli rol oynadıklarını göstermektedir (209, 210). BDNF, hem serotonin hem de norepinefrin geri alım inhibitörleri dahil olmak üzere birkaç farklı antidepresan sınıfıyla, tedavi edilerek artırılır (211). Bu artış, hem hayvan (204) hem de insan (212) çalışmalarında terapötik yanıtla ilişkilidir. Nöronlar üzerine çok sayıda çalışma olmasına rağmen, antidepresanların merkezi sinir sistemindeki diğer hücre tiplerinde BDNF üzerindeki etkisi çok araştırılmamıştır (74, 213, 214). Glial hücreler, çok sayıda trofik üreterek ve salarak nöronlar için, normal ve patolojik durumlarda destek ve koruma sağlarlar (215, 216).

Bu nedenle, çalışmamızda antidepresan ilaçlar haloperidol ve klorzapinin, bir glioblastoma-astrozit hücre hattında (C6) BDNF sentezi üzerine hücre kültüründe etkilerine baktık. Çalışmamızda 24 saat kültürü yapılan C6 glioma hücrelerinin BDNF antikoru boyanma şiddetine bakıldığında, kontrol grubu ile klorzapin ve haloperidol grupları arasında anlamlı bir fark bulunmadı. BDNF antikoru boyanma şiddetinin azalması, gruplar arasında canlı ve ölü hücre sayımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmasa da klorzapin ve haloperidol gruplarında canlı hücre sayılarının azalması gibi ilaçların olumsuz etkileri BDNF antikoru boyanma şiddetinin düşüşüyle bağlantılı olabilir. Nitekim, Yael ve ark. 'nın yaptıkları çalışmada, haloperidol, hem striatal sistem hem de limbik sistemdeki hücrelerin sayısında bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (138). Huang ve ark. 'nın yaptığı çalışmada da nörit, sinaptik spin ve sinaps kaybına yol açtıkları saptanmıştır (139). Bu nedenle kullandığımız antipsikotik dozlarının glial hücrelerde anlamlı olmasa da sayıca ve BDNF antikoru boyanma şiddeti azalması antipsikotiklerin olumsuz etkileriyle uyumludur. Elektron mikroskopunda klorzapin ve haloperidol gruplarında C6 glioma hücrelerinde dejenerasyonun ve apoptozisin belirtilerinden olan otofajik vakuollerin artışı, filopodların azalması, hücre tomurcuklanması ve nukleus kondensasyonunun görülmesi tipik ve atipik antipsikotiklerin olumsuz etkileriyle uyumludur.

Kontrol grubu ile Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 grupları BDNF antikoru boyanma şiddeti bakımından anlamlı bir artış gösterdiler. Ani-AKH-5, Ani-AKH-10 ve Ani-AKH-50 grupları sırasıyla doz artışlarıyla paralel olarak BDNF antikoru boyanma şiddeti gösterdiler. Ani-AKH-5 ile Ani-AKH-10 grubu arasındaki BDNF antikoru boyanma şiddeti farkı anlamlı değilken, Ani-AKH-50 grubu ile arasındaki fark anlamlıydı. Fakat en yüksek doz olan Ani-AKH-50 grubu C6 glioma hücrelerinde dejenerasyonun ve apoptozisin belirtilerinden otofajik vakuollerin büyüklüğünde artış, filopodlarda azalma, hücre tomurcuklanması ve nukleus kondensasyonu gözlemlendi. Bu nedenle Ani-AKH-50 dozunun canlı ve ölü hücre sayımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermese de diğer AKH gruplarına göre azalması, ultrastrüktürel dejenerasyon ve apoptozisin bulgularıyla uyumluydu.

İlk olarak Ma ve ark. (2015) tarafından keşfedilen bir yapı olan migrazomlar migrasyonla bağlantılı bir organel olarak bildirilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, migrazom organeli ve migrasitoz adı verilen yeni bir hücresel sürecin keşfi bildirilmiştir. Migrasitoz sırasında, göç eden hücre, arkasında geri çekme lifleri bırakır ve migrazomlar, geri çekme liflerinin uçlarında veya kesişim noktalarında büyür. Migrazomlar çok sayıda küçük vezikül ve sitosolik içerik içerir ve migrazomların büyümesi sırasında hücresel içeriklerin migrazomlara translokasyonu meydana gelir. Sonunda, geri çekme lifleri parçalanır ve migrazomlar ortama salınır veya doğrudan çevreleyen hücreler tarafından alınır.

Migrazomlar, karakteristik morfolojik özelliklere sahip zara bağlı hücresel yapılardır. Hücreler, veziküller ve sitozolik proteinler dahil olmak üzere hücresel içerikleri serbest bırakmak için migrazomları kullanabilir. Hücre biyolojisinde, bir organel, belirli bir işlevi yerine getiren bir hücrenin özel bir alt birimidir. Bir organelin diğer bir önemli özelliği, genellikle kendi zarı içinde yer almasıdır. Bu nedenle, bu kriterlere göre, migrazomun yeni bir organel olduğu ileri sürülmektedir (161, 168, 217).

Bildiğimiz kadarıyla, çalışmamız Ani-AKH 'nin C6 glioma hücrelerinde migrazom oluşumuna neden olması ilk rapordur. Ani-AKH-5 ve Ani-AKH-10 grublarında gruplarında migrazom organelleri gözlenirken, Ani-AKH-50 grubunda ise gözlenmedi. Ani-AKH-50 grubunda migrazom organeli gözlenmemesi, filopod azalmasıyla bağlantılı olabilir. Hu ve ark. 'nın yaptıkları çalışmada kültürünü yaptıkları fare peritoneal makrofajların filopodlarının hareketi (retraksiyonu) sırasında migrazom benzeri kolesterolden zengin partiküller bıraktıklarını bildirmişlerdir (218). Böbrek bowman kapsülünü döşeyen epitel hücre hattı, nöron ve embriyonik kök hücreler gibi çeşitli hücre tiplerinde de migrazomlar filopod yapıları gibi uzantılarla hücre membranı ve sitozol ile bağlantılı olan ve değişik sayıda veziküller içeren yapılar olarak tanımlanmışlardır (161, 164, 168). Bu nedenle Ani-AKH-50 grubunda migrazom organeli gözlenmemesi, filopod kaybı ve hücre dejenerasyonunda artışın görülmesiyle bağlantılı olabilir. Migrazom oluşumu, C6 glioma hücrelerinin metastatik özellikleriyle de bağlantılı olabilir. Ani-AKH 'nin in vivo' da migrazom oluşuna neden olup olmadığı ultrastrüktürel olarak elektron mikroskopunda araştırılabilir. Ayrıca, bundan sonra yapılacak çalışmalarda tetraspanin (TSPAN) (164, 165, 167) ve integrin $\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\beta 1$ (164) gibi migrazom belirteç proteinlerinin gösterilmesi de eklenerek farklı hipotezlerin sınanması düşünülebilir.

Sonuç olarak; Ani-AKH ‘nin in vitroda C6 glioma hücrelerinde doza bağlı olarak BDNF üretimini arttırdığı görülmüştür. Çeşitli nörodejeneratif hastalıklarda ve nörolojik bozukluklarda, BDNF’nin üretimini arttıracak yeni bir tedavi edici faktör olarak kullanılabilir. Ani-AKH düşük dozlarda antipsikotik veya diğer tedavi edici ilaçlarla kombine edilerek destekleyici alternatif bir tedavi seçeneği olarak görülebilir. Fakat deneysel olarak in vivo ve in vitro ve klinikte tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için ileriye dönük olarak yeni ve daha fazla çalışmalarla araştırılması ve desteklenmesi gereklidir.



KAYNAKLAR

1. Jozwiak-Bebenista M, Jasinska-Stroschein M, Kowalczyk E. 2017. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 77: 205-13
2. Paczkowska E, Luczkowska K, Piecyk K, Roginska D, Pius-Sadowska E, et al. 2015. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 75: 172-91
3. Bejot Y, Prigent-Tessier A, Cachia C, Giroud M, Mossiat C, et al. 2011. *Neurochem Int* 58: 102-11
4. Yamamoto H, Gurney ME. 1990. *J Neurosci* 10: 3469-78
5. Gielen A, Khademi M, Muhallab S, Olsson T, Piehl F. 2003. *Scand J Immunol* 57: 493-7
6. Lommatzsch M, Niewerth A, Klotz J, Schulte-Herbruggen O, Zingler C, et al. 2007. *Respir Med* 101: 1493-9
7. Horch HW, Katz LC. 2002. *Nat Neurosci* 5: 1177-84
8. Lahteinen S, Pitkanen A, Knuuttila J, Toronen P, Castren E. 2004. *Eur J Neurosci* 19: 3245-54
9. Pandya CD, Kutiyawalla A, Pillai A. 2013. *Asian J Psychiatr* 6: 22-8
10. Mutlu O, Gumuslu E, Kokturk S, Ulak G, Akar F, et al. 2016. *Fundam Clin Pharmacol* 30: 4-13
11. Chen A, Xiong LJ, Tong Y, Mao M. 2013. *Biomed Rep* 1: 167-76
12. Sen S, Duman R, Sanacora G. 2008. *Biol Psychiatry* 64: 527-32
13. Siuciak JA, Lewis DR, Wiegand SJ, Lindsay RM. 1997. *Pharmacol Biochem Behav* 56: 131-7
14. Hohlfeld R, Kerschensteiner M, Stadelmann C, Lassmann H, Wekerle H. 2006. *Neurol Sci* 27 Suppl 1: S1-7
15. Shirayama Y, Chen AC, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. 2002. *J Neurosci* 22: 3251-61
16. Ratajczak P, Kus K, Murawiecka P, Slodzinska I, Giermaziak W, Nowakowska E. 2015. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 75: 314-25
17. de Bartolomeis A, Tomassetti C, Iasevoli F. 2015. *CNS Drugs* 29: 773-99
18. Dold M, Samara MT, Li C, Tardy M, Leucht S. 2015. *Cochrane Database Syst Rev* 1: CD009831
19. Mutlu O, Ulak G, Kokturk S, Celikyurt IK, Akar F, Erden F. 2015. *Homeopathy* 104: 15-23
20. Zemanova M, Staskova T, Kodrik D. 2016. *J Insect Physiol* 91-92: 39-47
21. Benda P, Lightbody J, Sato G, Levine L, Sweet W. 1968. *Science* 161: 370-1
22. Gulino R, Vicario N, Giunta MAS, Spoto G, Calabrese G, et al. 2019. *Int J Mol Sci* 20
23. Stephenson J, Nutma E, van der Valk P, Amor S. 2018. *Immunology* 154: 204-19
24. Vicario N, Zappalà A, Calabrese G, Gulino R, Parenti C, et al. 2017. *Front Physiol* 8: 1060
25. Borrachero-Conejo AI, Adams WR, Saracino E, Mola MG, Wang M, et al. 2020. *Faseb j* 34: 6539-53
26. Fernández-García S, Sancho-Balsells A, Longueville S, Hervé D, Gruart A, et al. 2020. *Cell Death Dis* 11: 411
27. Nikolic L, Nobili P, Shen W, Audinat E. 2020. *Glia* 68: 1677-91

28. Kam TI, Hinkle JT, Dawson TM, Dawson VL. 2020. *Neurobiol Dis* 144: 105028
29. Chang X, Li J, Niu S, Xue Y, Tang M. 2020. *J Appl Toxicol*
30. Killoy KM, Harlan BA, Pehar M, Vargas MR. 2020. *Glia*
31. Sawamoto A, Okuyama S, Nakajima M, Furukawa Y. 2019. *Pharmacol Rep* 71: 653-8
32. Vattananongkup J, Piyachaturawat P, Tuchinda P, Sanvarinda P, Sanvarinda Y, Jantaratnotai N. 2016. *Planta Med* 82: 1456-62
33. Gorjod RM, Alaimo A, Porte Alcon S, Martinez JH, Cortina ME, et al. 2018. *Toxicol Lett* 295: 357-68
34. Qu M. 2019. *Med Sci Monit* 25: 5776-84
35. Takahashi S, Hisatsune A, Kurauchi Y, Seki T, Katsuki H. 2018. *J Pharmacol Sci* 137: 47-54
36. Ramalingam M, Cheng MH, Kim SJ. 2017. *J Recept Signal Transduct Res* 37: 550-9
37. Luo D, Zhang Y, Yuan X, Pan Y, Yang L, et al. 2019. *Pharmacol Res* 141: 530-40
38. Belizário J, Vieira-Cordeiro L, Enns S. 2015. *Mediators Inflamm* 2015: 128076
39. Mariño G, Niso-Santano M, Baehrecke EH, Kroemer G. 2014. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15: 81-94
40. Huang X, Bai HM, Chen L, Li B, Lu YC. 2010. *J Clin Neurosci* 17: 1515-9
41. van Beek N, Klionsky DJ, Reggiori F. 2018. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1865: 803-16
42. Isakovic AM, Dulovic M, Markovic I, Kravic-Stevovic T, Bumbasirevic V, et al. 2017. *Exp Cell Res* 350: 32-40
43. Krajčí D, Mares V, Lisá V, Spanová A, Vorlíček J. 2000. *Eur J Cell Biol* 79: 365-76
44. Röser K, Bohn W, Giese G, Mannweiler K. 1991. *Exp Cell Res* 197: 200-6
45. Coyle DE. 1995. *J Neurosci Res* 41: 374-85
46. Ozawa A, Kadowaki E, Horio T, Sakaue M. 2019. *Neuroscience Letters* 698: 146-53
47. Bamji SX, Majdan M, Pozniak CD, Belliveau DJ, Aloyz R, et al. 1998. *The Journal of cell biology* 140: 911-23
48. Marchetti L, Bonsignore F, Gobbo F, Amodeo R, Calvello M, et al. 2019. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116: 201902790
49. Marchetti L, Bonsignore F, Gobbo F, Amodeo R, Calvello M, et al. 2019. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116: 21563-72
50. Marton S, González B, Rodríguez-Bottero S, Miquel E, Martínez-Palma L, et al. 2019. *Frontiers in Pharmacology* 10
51. Lima Giacobbo B, Doorduyn J, Klein HC, Dierckx RAJO, Bromberg E, de Vries EFJ. 2019. *Molecular neurobiology* 56: 3295-312
52. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinshtein P. 2019. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 13
53. Kim J, Lee S, Kang S, Kim S-H, Kim J-C, et al. 2017. *Neural Regeneration Research* 12: 1733-41
54. Bhardwaj R, Deshmukh R. 2017. *Clinical Investigation* 07
55. Autry AE, Monteggia LM. 2012. *Pharmacological reviews* 64: 238-58
56. Nair A, Vaidya VA. 2006. *Journal of biosciences* 31: 423-34

57. Jiang L, Zhang H, Wang C, Ming F, Shi X, Yang M. 2019. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 88: 168-74
58. Hempstead BL. 2015. *Transactions of the American Clinical and Climatological Association* 126: 9-19
59. Zanin JP, Unsain N, Anastasia A. 2017. *Journal of Neurochemistry* 141: 330-40
60. Kenchappa RS, Zampieri N, Chao MV, Barker PA, Teng HK, et al. 2006. *Neuron* 50: 219-32
61. Davey F, Davies AM. 1998. *Curr Biol* 8: 915-8
62. Teng HK, Teng KK, Lee R, Wright S, Tevar S, et al. 2005. *The Journal of Neuroscience* 25: 5455-63
63. Meng M, Zhiling W, Hui Z, Shengfu L, Dan Y, Jiping H. 2005. *Int J Dev Neurosci* 23: 515-21
64. Yoshii A, Constantine-Paton M. 2014. *Front Synaptic Neurosci* 6: 6
65. Mohammadi A, Amooeian VG, Rashidi E. 2018. *Curr Gene Ther* 18: 45-63
66. Numakawa T, Odaka H, Adachi N. 2018. *Int J Mol Sci* 19
67. Terenzio M, Golding M, Russell MRG, Wicher KB, Rosewell I, et al. 2014. *The EMBO Journal* 33: 1582-98
68. Schmieg N, Menendez G, Schiavo G, Terenzio M. 2014. *Semin Cell Dev Biol* 27: 32-43
69. Pu L, Liu Q-s, Poo M-m. 2006. *Nature neuroscience* 9: 605-7
70. Pradhan J, Noakes PG, Bellingham MC. 2019. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 13
71. Kowiański P, Lietzau G, Czuba E, Waśkow M, Steliga A, Moryś J. 2018. *Cellular and Molecular Neurobiology* 38: 579-93
72. Li Y, Wang D, Li Y, Chu H, Zhang L, et al. 2017. *Cell Death & Disease* 8: e2959-e
73. Lin C-C, Huang T-L. 2020. *Biomedical Journal* 43: 134-42
74. Jin Y, Sun LH, Yang W, Cui RJ, Xu SB. 2019. *Frontiers in Neurology* 10
75. Binford SS, Hubbard EM, Flowers E, Miller BL, Leutwyler H. 2018. *Biological research for nursing* 20: 63-9
76. Sen S, Duman R, Sanacora G. 2008. *Biological psychiatry* 64: 527-32
77. Bus BA, Molendijk ML. 2016. *Tijdschr Psychiatr* 58: 215-22
78. Neto FL, Borges G, Torres-Sanchez S, Mico JA, Berrocoso E. 2011. *Current neuropharmacology* 9: 530-52
79. Yu H, Chen Z-y. 2011. *Acta pharmacologica Sinica* 32: 3-11
80. Tolwani R, Buckmaster PS, Varma S, Cosgaya JM, Wu Y, et al. 2002. *Neuroscience* 114: 795-805
81. Khani-Habibabadi F, Askari S, Zahiri J, Javan M, Behmanesh M. 2019. *Comput Biol Chem* 83: 107153
82. Martinowich K, Lu B. 2008. *Neuropsychopharmacology* 33: 73-83
83. Duman RS, Deyama S, Fogaça MV. 2019. *European Journal of Neuroscience* n/a
84. Lv Q-Q, Wu W-J, Guo X-L, Liu R-L, Yang Y-P, et al. 2014. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 37: 987-95
85. Castrén E, Rantamäki T. 2010. *Developmental neurobiology* 70: 289-97
86. Schmidt HD, Duman RS. 2010. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 35: 2378-91

87. Shirayama Y, Chen ACH, Nakagawa S, Russell DS, Duman RS. 2002. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 22: 3251-61
88. Levy MJF, Boulle F, Steinbusch HW, van den Hove DLA, Kenis G, Lanfumey L. 2018. *Psychopharmacology* 235: 2195-220
89. Lindholm JSO, Castrén E. 2014. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 8
90. Fang F, Yang W, Florio JB, Rockenstein E, Spencer B, et al. 2017. *Sci Rep* 7: 3868
91. Mitroshina EV, Yarkov RS, Mishchenko TA, Krut VG, Gavrish MS, et al. 2020. *Front Cell Dev Biol* 8: 582
92. Kim HS, Jeon I, Noh JE, Lee H, Hong KS, et al. 2020. *Exp Neurobiol* 29: 130-7
93. Paul BD, Snyder SH. 2019. *Front Neurol* 10: 1315
94. Wang J, Hu WW, Jiang Z, Feng MJ. 2020. *World J Stem Cells* 12: 323-38
95. Stępnicki P, Kondej M, Kaczor AA. 2018. *Molecules (Basel, Switzerland)* 23: 2087
96. Stępnicki P, Kondej M, Kaczor AA. 2018. *Molecules* 23
97. Li P, Snyder GL, Vanover KE. 2016. *Current topics in medicinal chemistry* 16: 3385-403
98. Rampino A, Marakhovskaia A, Soares-Silva T, Torretta S, Veneziani F, Beaulieu JM. 2019. *Frontiers in Psychiatry* 9
99. Jafari S, Fernandez-Enright F, Huang X-F. 2012. *Journal of Neurochemistry* 120: 371-84
100. Ramachandraiah CT, Subramaniam N, Tancer M. 2009. *Indian journal of psychiatry* 51: 324-6
101. Owens D, Johnstone E. 2018. *Brain and Neuroscience Advances* 2: 239821281881749
102. Desmarais J, Beauclair L, Margolese H. 2012. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)* 26: 1167-74
103. Suzuki M, Niidome K, Maeda K, Kikuchi T, Usami T, Futamura T. 2019. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 154: 275-87
104. Gener T, Tauste Campo A, Alemany-González M, Nebot P, Delgado-Sallent C, et al. 2019. *Neuropharmacology* 158: 107743
105. Stroup TS, Gray N. 2018. *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)* 17: 341-56
106. Muench J, Hamer AM. 2010. *Am Fam Physician* 81: 617-22
107. Gören JL. 2016. *The mental health clinician* 6: 285-8
108. Toll A, Bergé D, Burling K, Scoriels L, Treen D, et al. 2020. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*
109. Yang C, Hao Z, Tian J, Zhang W, Li W, et al. 2018. *Oncotarget* 9: 15101-10
110. Shao Z, Dyck LE, Wang H, Li X-M. 2006. *Journal of psychiatry & neuroscience : JPN* 31: 32-7
111. Greig SL. 2015. *Drugs* 75: 1687-97
112. Tempier A, He J, Zhu S, Zhang R, Kong L, et al. 2013. *Curr Alzheimer Res* 10: 199-206
113. Qing H, Xu H, Wei Z, Gibson K, Li XM. 2003. *Eur J Neurosci* 17: 1563-70
114. Nardin P, Tramontina AC, Quincozes-Santos A, Tortorelli LS, Lunardi P, et al. 2011. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 35: 1291-6

115. Chokhawala K, Stevens L. 2020. In *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.
116. Jennings AA, Guerin N, Foley T. 2018. *Clin Interv Aging* 13: 2107-17
117. Faden J, Citrome L. 2019. *Expert Opin Pharmacother* 20: 11-24
118. Drummond N, McCleary L, Freiheit E, Molnar F, Dalziel W, et al. 2018. *Can Fam Physician* 64: e488-e97
119. Tardy M, Huhn M, Kissling W, Engel RR, Leucht S. 2014. *Cochrane Database Syst Rev*: Cd009268
120. Grubor M, Zivkovic M, Sagud M, Nikolac Perkovic M, Mihaljevic-Peles A, et al. 2020. *Int J Mol Sci* 21
121. Dib JE, Adams CE, Ikdaish WH, Atallah E, Yaacoub HE, et al. 2019. *F1000Res* 8: 1442
122. Sykes DA, Moore H, Stott L, Holliday N, Javitch JA, et al. 2017. *Nature communications* 8: 763-
123. Chouinard G, Samaha AN, Chouinard VA, Peretti CS, Kanahara N, et al. 2017. *Psychother Psychosom* 86: 189-219
124. Amato D, Krueyer A, Samaha A-N, Heinz A. 2019. *Frontiers in Psychiatry* 10
125. Oliveira IRd, Nunes PM, Coutinho DM, Sena EPd. 2009. *Brazilian Journal of Psychiatry* 31: 52-6
126. Markowitz JD, Narasimhan M. 2008. *Psychiatry (Edgmont (Pa. : Township))* 5: 29-36
127. Stern TA, Celano CM, Gross AF, Huffman JC, Freudenreich O, et al. 2010. *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry* 12: PCC.09r00938-PCC.09r
128. Hill SK, Bishop JR, Palumbo D, Sweeney JA. 2010. *Expert review of neurotherapeutics* 10: 43-57
129. Beninger R, Wasserman J, Zanibbi K, Charbonneau D, Mangels J, Beninger B. 2003. *Schizophrenia research* 61: 281-92
130. Mathews M, Gratz S, Adetunji B, George V, Mathews M, Basil B. 2005. *Psychiatry (Edgmont (Pa. : Township))* 2: 36-41
131. Aggarwal A, Jiloha RC. 2008. *Indian journal of pharmacology* 40: 237-8
132. Inder W, Castle D. 2011. *The Australian and New Zealand journal of psychiatry* 45: 830-7
133. Tewksbury A, Olander A. 2016. *The mental health clinician* 6: 185-90
134. Chen J, Huang X-F, Shao R, Chen C, Deng C. 2017. *Frontiers in neuroscience* 11: 643-
135. Reis AF. 2007. *Brazilian Journal of Psychiatry* 29: 9-10
136. Rochon PA, Stukel TA, Sykora K, Gill S, Garfinkel S, et al. 2005. *Archives of Internal Medicine* 165: 1882-8
137. Ward KM, Citrome L. 2018. *Neurology and Therapy* 7: 233-48
138. Yael D, Zeef DH, Sand D, Moran A, Katz DB, et al. 2013. *Frontiers in systems neuroscience* 7: 110-
139. Huang X-F, Song X. 2019. *Medicinal Research Reviews* 39: 386-403
140. Haddad PM, Correll CU. 2018. *Ther Adv Psychopharmacol* 8: 303-18
141. Reynolds GP, Kirk SL. 2010. *Pharmacol Ther* 125: 169-79
142. Sullivan LC, Clarke WP, Berg KA. 2015. *Current pharmaceutical design* 21: 3732-8

143. Kane J, Leucht S, Carpenter D, Docherty J. 2003. *Journal of Clinical Psychiatry* 64: 1-100
144. Nemeroff CB. 2005. *J Clin Psychiatry* 66 Suppl 8: 13-21
145. Clare AW, Hermione CP, Richard IGH. 2018. *European Journal of Endocrinology* 178: R245-R58
146. Lertxundi U, Hernandez R, Medrano J, Domingo-Echaburu S, García M, Aguirre C. 2013. *Seizure* 22: 141-3
147. Shulman M, Miller A, Misher J, Tentler A. 2014. *Journal of multidisciplinary healthcare* 7: 489-501
148. Stoner SC. 2018. *The mental health clinician* 7: 246-54
149. Riordan HJ, Antonini P, Murphy MF. 2011. *American health & drug benefits* 4: 292-302
150. Franch Pato CM, Molina Rodríguez V, Franch Valverde JI. 2017. *Revista de Psiquiatría y Salud Mental (English Edition)* 10: 38-44
151. Marco H. 2008. pp. 44-52
152. Mutlu O, Páleníček T, Pinterová N, Šichová K, Horáček J, et al. 2018. *Fundam Clin Pharmacol* 32: 589-602
153. Mutlu O, Ulak G, Akar F, Erden F, Celikyurt IK, et al. 2017. *Chin J Physiol* 60: 106-13
154. Van der Horst DJ. 2003. *Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology* 136: 217-26
155. Gäde G. 2010. *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe. Progress in the chemistry of organic natural products. Progrès dans la chimie des substances organiques naturelles* 71: 1-128
156. Mutlu O, Gumuslu E, Kokturk S, Ulak G, Akar F, et al. 2015. *Fundamental & clinical pharmacology* 30: 4-13
157. Toprak U. 2020. *Frontiers in physiology* 11: 434-
158. Lee G, Park JH. 2004. *Genetics* 167: 311-23
159. Mochanová M, Tomčala A, Svobodová Z, Kodrík D. 2018. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 226: 26-35
160. Zaborowski MP, Balaj L, Breakefield XO, Lai CP. 2015. *Bioscience* 65: 783-97
161. Ma L, Li Y, Peng J, Wu D, Zhao X, et al. 2015. *Cell Research* 25: 24-38
162. Quezada C, Torres Á, Niechi I, Uribe D, Contreras-Duarte S, et al. 2018. *Mol Aspects Med* 60: 38-51
163. Chuo ST-Y, Chien JC-Y, Lai CP-K. 2018. *Journal of Biomedical Science* 25: 91
164. Zhang Y, Wang J, Ding Y, Zhang J, Xu Y, et al. 2020. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 8
165. Zhao X, Lei Y, Zheng J, Peng J, Li Y, et al. 2019. *Cell Discovery* 5: 27
166. Kowal J, Tkach M, Théry C. 2014. *Curr Opin Cell Biol* 29: 116-25
167. Chen Y, Li Y, Ma L, Yu L. 2018. pp. 43-9
168. Majumdar B, Sarode S, Sarode G, Patil S. 2016. *Journal of International Oral Health* 8: i-ii
169. Porter KR, Claude A, Fullam EF. 1945. *The Journal of experimental medicine* 81: 233-46
170. Taylor AC, Robbins E. 1963. *Dev Biol* 6: 660-73
171. Mutlu O, Ulak G, Kokturk S, Komsuoglu Celikyurt I, Tanyeri P, et al. 2016. *Homeopathy* 105: 96-101
172. Mutlu O, Gumuslu E, Kokturk S, Ulak G, Akar F, et al. 2016. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 30: 4-13

173. Yang MC, Lung FW. 2011. *Psychopharmacology (Berl)* 217: 397-410
174. Lesack K, Naugler C. 2012. *BMC Research Notes* 5: 1-9
175. Hirano H, Yokoyama S, Yunoue S, Yonezawa H, Yatsushiro K, et al. 2014. *Int J Clin Oncol* 19: 643-8
176. Varghese F, Bukhari AB, Malhotra R, De A. 2014. *PLoS One* 9: e96801
177. Köktürk S, Ceylan S, Etus V, Yasa N, Ceylan S. 2013. *Neural Regen Res* 8: 773-82
178. Baj G, Pinhero V, Vaghi V, Tongiorgi E. 2016. *Journal of Cell Science* 129: 2852-64
179. Yang T, Nie Z, Shu H, Kuang Y, Chen X, et al. 2020. *Front Cell Neurosci* 14: 82
180. Leal G, Comprido D, Duarte CB. 2014. *Neuropharmacology* 76 Pt C: 639-56
181. Pillai A, Kale A, Joshi S, Naphade N, Raju MS, et al. 2010. *Int J Neuropsychopharmacol* 13: 535-9
182. Chiou Y-J, Huang T-L. 2019. *PLOS ONE* 14: e0212373
183. Heitz U, Papmeyer M, Studerus E, Egloff L, Ittig S, et al. 2019. *The World Journal of Biological Psychiatry* 20: 545-54
184. Pandya CD, Kutianawalla A, Pillai A. 2013. *Asian Journal of Psychiatry* 6: 22-8
185. Suchanek-Raif R, Raif P, Kowalczyk M, Paul-Samojedny M, Zielińska A, et al. 2020. *Disease Markers* 2020: 4789806
186. Wurzelmann M, Romeika J, Sun D. 2017. *Neural Regeneration Research* 12: 7-12
187. Cohen CI, Meesters PD, Zhao J. 2015. *Lancet Psychiatry* 2: 340-50
188. Ratajczak P, Kus K, Murawiecka P, Słodzińska I, Giermaziak W, Nowakowska E. 2015. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 75: 314-25
189. Paczkowska E, Łuczowska K, Piecyk K, Rogińska D, Pius-Sadowska E, et al. 2015. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 75: 172-91
190. Bifrare Y-D, Kummer J, Joss P, Täuber MG, Leib SL. 2005. *The Journal of Infectious Diseases* 191: 40-5
191. Lee SS, Kim CJ, Shin MS, Lim BV. 2020. *J Exerc Rehabil* 16: 49-57
192. Guo W, Ji Y, Wang S, Sun Y, Lu B. 2014. *J Cell Sci* 127: 2249-60
193. Mattson MP, Zhang Y, Bose S. 1993. *Experimental Neurology* 121: 1-13
194. Bernstein HG, Steiner J, Guest PC, Dobrowolny H, Bogerts B. 2015. *Schizophr Res* 161: 4-18
195. Shilpa Borehalli M, Christofer T. 2019. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 30: 20180120
196. Tarasov VV, Svistunov AA, Chubarev VN, Sologova SS, Mukhortova P, et al. 2020. *Frontiers in Pharmacology* 10
197. Kishi T, Yoshimura R, Ikuta T, Iwata N. 2018. *Frontiers in Psychiatry* 8
198. Levy MJF, Boulle F, Steinbusch HW, van den Hove DLA, Kenis G, Lanfumey L. 2018. Neurotrophic factors and neuroplasticity pathways in the pathophysiology and treatment of depression. pp. 2195-220. Germany: Springer
199. Popova NK, Ilchibaeva TV, Naumenko VS. 2017. *Biochemistry (Moscow)* 82: 308-17
200. Sen S, Duman R, Sanacora G. 2008. *Biological psychiatry* 64: 527-32
201. Arumugam V, John V, Augustine N, Jacob T, Joy S, et al. 2017. *Indian Journal of Pharmacology* 49: 236-42
202. Phillips C. 2017. *Neural Plasticity* 2017: 7260130

203. Monteggia LM, Barrot M, Powell CM, Berton O, Galanis V, et al. 2004. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101: 10827-32
204. Deltheil T, Guiard BP, Cerdan J, David DJ, Tanaka KF, et al. 2008. *Neuropharmacology* 55: 1006-14
205. Adachi M, Barrot M, Autry AE, Theobald D, Monteggia LM. 2008. *Biol Psychiatry* 63: 642-9
206. Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT. 2001. *Biol Psychiatry* 50: 260-5
207. Dwivedi Y. 2010. *Annals of medicine* 42: 87-96
208. Eisen RB, Perera S, Bawor M, Dennis BB, El-Sheikh W, et al. 2016. *Scientific Reports* 6: 25229
209. Sato Y, Chin Y, Kato T, Tanaka Y, Tozuka Y, et al. 2009. *Neurosci Res* 65: 71-8
210. Perucho J, Gómez A, Muñoz MP, de Yébenes JG, Mena M, Casarejos MJ. 2016. *Mol Cell Neurosci* 74: 128-45
211. Yoshimura R, Mitoma M, Sugita A, Hori H, Okamoto T, et al. 2007. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 31: 1034-7
212. Lee HY, Kim YK. 2008. *Neuropsychobiology* 57: 194-9
213. Angelucci F, Croce N, Spalletta G, Dinallo V, Gravina P, et al. 2011. *Pharmacology* 87: 5-10
214. Bjorkholm C, Monteggia L. 2015. *Neuropharmacology* 102
215. Sawada M, Sawada H, Nagatsu T. 2008. *Neurodegener Dis* 5: 254-6
216. Liu Y, Yan Y, Inagaki Y, Logan S, Bosnjak ZJ, Bai X. 2017. *Anesth Analg* 125: 241-54
217. Quezada C, Torres Á, Niechi I, Uribe D, Contreras-Duarte S, et al. 2018. *Molecular Aspects of Medicine* 60: 38-51
218. Hu X, Weston TA, He C, Jung RS, Heizer PJ, et al. 2019. *Elife* 8

HAM VERİLER



FORMLAR

ETİK KURUL KARARI

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

GLİOMA HÜCRELERİNDE ANTİPSİKOTİK İLAÇLAR VE ADİPOKİNETİK HORMONUN BEYİN KAYNAKLI NÖROTROFİK FAKTÖR ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 10	% 5	% 6	% 7
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	KAZAK, Filiz and YARIM, Gül Fatma. "Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör", Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2015. Yayın	% 3
2	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
3	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	% 1
4	Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
5	Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi	<% 1
6	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	<% 1
7	www.yumpu.com İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sibel	Soyadı	Doğan
Doğ.Yeri	Divriği	Doğ.Tar.	1974
Email	Sibeldogan1974@gmail.com	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi	2020
Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Fakültesi	2013
Lise	Bağcılar Anadolu Lisesi	1991

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Biyolog	İstanbul Tıp Fakültesi	1996- Halen
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	iyi	orta	İyi		60

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı	63		

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsoft Office Programları	İyi

Yayınları/Tebligleri Sertifikaları/Ödülleri

- 1- Beşli N, Yenmiş G, Tunçdemir M, Saraç E. Y, Doğan S, Solakoğlu S. “ Metformin suppresses the proliferation and invasion through NF-kB and MMPs in MCF-7 cell line” Turkish Journal Of Biochemistry-Türk Biyokimya Dergisi , cilt.45, ss.122-132, 2019 (SCI Expanded İndekslerine giren dergi)
- 2-Soydaş T, Saraç E. Y, Çınar S, Yenmiş G, Doğan S, SOLAKOĞLU S. “Effects of Short-term High Glucose on nIH/3T3 Fibroblast Proliferation, Apoptosis, and Collagen Type1” ProductionTıp Fakültesi Klinikleri Dergisi , cilt.2, ss.91-95, 2019 (Hakemli Üniversite Dergisi)
- 3- Soydaş T, Saraç E. Y, Çınar S, Doğan S, Solakoğlu S, Tunçdemir S. “ Short term effect of metformin on proliferation of 3T3 mouse fibroblast cells in hyperglycemic models” Journal of physiology and biochemistry , cilt.74, ss.273-281, 2018 (SCI İndekslerine giren dergi)
- 4- Kotil T, Erdoğan A, Mutlu H. S, Doğan S, Solakoğlu S. titanyum dioksit nanoparçacıklarının yac-1 lenfoma hücre soyu canlılığı ve ince yapısı üzerine etkileri, journal of ıstanbul faculty of medicine İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi , cilt.81, ss.17-24, 2018 (ESCI indekslerine giren dergi)
- 5-Kotil T, Erdogan A, Mutlu H. S, Dogan S, Solakoglu S "The effects of titanium dioxide nanoparticles on vitality and ultrastructure of yac-1 lymphoma cell line", Journal of İstanbul Faculty of Medicine İstanbul Tıp Fakültesi dergisi, cilt.81, ss.17-24, 2018
- 6- Soydaş T, Saraç E. Y , Çınar S, Doğan S, Solakoğlu S ,Kanıgür S.”The protective effects of metformin in an in vitro model of aging 3T3 fibroblast under the high glucose conditions” cilt.74, ss.273-281 journal of physiology and biochemistry, 2018 (SCI İndekslerine Giren Dergi)

KONGRE/SEMPOZYUM BİLDİRİ KİTAPLARINDA YER ALAN TEBLİĞLER

- 1- Erdoğan A, Mutlu H. S, Doğan S, Kotil T.” Effects of Monobenzyl Ether of Hydroquinone on 3T3 Mouse Fibroblast Viability and Ultrastructure” 14th Multinational Congress On Microscopy, Belgrad, Sırbistan Ve Karadağ, 15 - 20 September 2019, ss.312-314

2- Kotil T, Erdoğan A, Mutlu H. S, Doğan S, Solakoğlu S.”Titanyum dioksit nanopartiküllerin YAC-1 lenfoma hücre soyu üzerine etkileri” XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, İzmir, Türkiye, 30 April - 03 May

3- Yaprak Saraç E. Soydaş T, Doğan S , Biltekin B., Solakoğlu S , Kanıgür G .” Short term effect of metformin on proliferation of 3T3 mouse fibroblast cells in hyperglycemic models”

12th Multinational Congress on Microscopy, Eger, Macaristan, 23 - 29 August 2015, ss.418-420

4- Doğan S, Köktürk S, Mutlu O, Dağıstanlı F.K , Dolanbay E .G, Usta E , Özdemir F.” the effects of anax imperator adipokinetic hormone on the expression of brain-derived neurotrophic factor in arat glioma cell line “ 14th Multinational Congress On Microscopy, Belgrad, Sırbistan Ve Karadağ, 15 - 20 September

Özel İlgi Alanları (Hobileri):