



***IN VITRO* ŞARTLARDA BAZI ANESTEZİKLERİN
PROSTAT KANSERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Kübra Nur BAYINDIRLI

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Elanur AYDIN KARATAŞ

2020

Her hakkı saklıdır.



**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

***IN VITRO* ŞARTLARDA BAZI ANESTEZİKLERİN PROSTAT KANSERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Kübra Nur BAYINDIRLI

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Elanur AYDIN KARATAŞ

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Erzurum

2020

Her hakkı saklıdır

T.C.
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ ONAY FORMU

IN VITRO ŞARTLARDA BAZI ANESTEZİKLERİN PROSTAT KANSERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ

Dr. Öğr. Üyesi Elanur AYDIN KARATAŞ danışmanlığında Kübra Nur BAYINDIRLI tarafından hazırlanan bu çalışma 10 / 08 / 2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ana Bilim Dalı Seçiniz Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **Oy birliği ile (3/3)** ile kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Enes ARSLAN	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Elanur AYDIN KARATAŞ	İmza	:

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Prof. Dr. Arzu GÖRMEZ
Enstitü Müdürü

*Bu tez çalışması Erzurum Teknik Üniversitesi tarafından 2019/20 nolu proje ile desteklenmiştir.

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

10 / 08 / 2020

İmzası

Kübra Nur BAYINDIRLI

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***IN VITRO* ŞARTLARDA BAZI ANESTEZİKLERİN PROSTAT KANSERİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

Kübra Nur BAYINDIRLI

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Elanur AYDIN KARATAŞ

Prostat kanseri, dünya genelinde erkekler arasında akciğer kanserinden sonra en sık görülen kanserdir ve her yıl yüz binlerce ölüme sebep olmaktadır. Prostat kanseri tedavisinde radikal prostatektomi, radyoterapi, kemoterapi gibi yöntemler kullanılmakta olup bu süreçler çok sancılı süreçlerdir. Bu ağrılı süreci daha ağrısız bir hale getirmek için yeni çözümler aranırken kanser tedavisine yardımcı olacak maddelerin kullanımı da önemlidir. Bu amaçla anestezi maddelerinin kullanımı yeni bir alternatif olarak düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmamızda insan prostat kanseri beyin metastazı DU145 ve kemik metastazı PC3 hücreleri üzerine intravenöz bir anestezi olan propofolün, kemoterapötik bir ajan olan gemsitabin ile ayrı ayrı ve eş zamanlı olarak uygulanması durumunda oluşacak etkiler hem hücresel hem de moleküler düzeyde araştırıldı. Araştırmamızın ilk aşamasında hücre proliferasyon testi CVDK-8 ve laktat dehidrogenaz (LDH) salınım testi yardımıyla söz konusu ajanların toksik olan dozları belirlendi. Devam eden safhalarda ise bu ajanların hücre hatları üzerine olan biyokimyasal etkilerini tespit etmek için Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) ve Toplam Oksidan Kapasite (TOD) analizleri ve bu ajanlarla muamele edilen hücrelerdeki onkogenik proteinlerde ifade değişimlerini göstermek amacı ile de western blot analizi gerçekleştirildi. Hem DU145 hem de PC3 hücrelerinde propofolün gemsitabinin etkinliğini arttırdığı tespit edildi. Özellikle propofol ve gemsitabinin eş zamanlı olarak yüksek konsantrasyonlarda uygulandıklarında hücre canlılığını azalttığı ve LDH aktivitesini arttırdığı gözlemlendi. Western blot analizinden elde edilen sonuçlara göre, bu iki ajanın birlikte kullanımı PI3K/Akt/mTOR yolunun sinerjistik bir şekilde inhibe olmasına yol açtığı görüldü. Söz konusu çalışmadan elde edilen veriler propofol ve benzeri anestezi ajanlarının kemoterapiye yardımcı olması amacıyla beraber kullanılabileceğinin ön veri potansiyeli taşımaktadır.

2020, 73 sayfa

Anahtar Kelimeler: Gemcitabin, Propofol, Prostat kanseri, Sitotoksikite, Western Blot analizi

ABSTRACT

MS. Thesis

EFFECTS OF SOME ANESTHETICS ON PROSTATE CANCER UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

Kübra Nur BAYINDIRLI

Erzurum Technical University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Elanur AYDIN KARATAŞ

In the present study, the effects of human prostate cancer brain metastasis DU145 and bone metastasis PC3 cells with propofol which is an intravenous anesthetic on its own and simultaneously with gemcitabine, were investigated at both cellular and molecular level. In the first stage of our study, toxic doses of these agents was determined by using the CVDK-8 and lactate dehydrogenase release (LDH) test. In the following phases, Total Antioxidan Status (TAS) and Total Oxidan Status (TOS) analyzes were performed to determine the biochemical effects of these agents on cell lines, and also western blot analysis was used to show the inhibition of important oncogenic PI3K/Akt/mTOR pathway in cells treated with these agents. It was found that propofol increased the effectiveness of gemcitabine in both cells. It was observed that especially when propofol and gemcitabine were administered simultaneously at high concentrations, they reduced cell viability and increased LDH activity. According to the results obtained from the Western blot analysis, the combination of these two agents was found to lead to synergistic inhibition of the PI3K / Akt / mTOR pathway. The data obtained from present study reveals some preliminary data that propofol and similar anesthetic agents can be used together to assist chemotherapy.

2020, 73 page

Keywords: Gemcitabine, Propofol, Prostate cancer, Cytotoxicity, Western Blot Analysis

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca ilgi ve desteğini esirgemeyen, çalışmamı şekillendirirken bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Elanur AYDIN KARATAŞ' a

Tez çalışmalarım sırasında mesleki bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Doç. Dr. Ömer Faruk KARATAŞ' a

Bu süreçte tanıma fırsatı yakaladığım, birlikte çalışmaktan büyük keyif ve zevk aldığım çalışma arkadaşlarım Neslişah BARLAK, Fatma ŞANLI, Özel ÇAPIK, Abdulmelik AYTATLI ve Ahsen KILIÇ' a

Her zorlu süreçte yanımda olan, manevi desteklerini hep hissettiğim kıymetli arkadaşlarım Çiğdem AKTAŞ ve Şeymanur ÇOBANOĞLU' na

Bu yaşıma kadar bana oyun arkadaşı oldukları için sevgili kardeşlerim Büşra Nur BAYINDIRLI, Rumeysa BAYINDIRLI, Dilara BAYINDIRLI ve Muhammed Ali BAYINDIRLI' ya

Beni benden çok seven ve düşünen, koşullar ne olursa olsun beni hep destekleyen çok kıymetli ve sevgili babam Lokman BAYINDIRLI ve biricik annem Fatma BAYINDIRLI' ya sonsuz sevgi, minnet ve şükranlarımı sunarım.

Kübra Nur BAYINDIRLI
Ağustos 2020

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Kanser	1
1.1.1. Kanser biyolojisi	1
1.1.2. Kanser ve oksidatif stres	3
1.1.3. Kanserde rol alan sinyal yolları	5
1.1.3.1. Mitojenle aktive protein kinaz(MAPK) yolağı	5
1.1.3.2. P53 yolağı	7
1.1.3.3. Wnt/ β -katenin yolağı	8
1.1.3.4. Janus kinaz / sinyal transdüserleri ve transkripsiyon (JAK / STAT) yolu	11
1.1.3.5. Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) /Akt/ rapamisinin memeli hedefi (mTOR) sinyal yolu	13
1.1.4. Prostat kanseri.	15
1.1.4.1. Androjen bağımlı prostat kanseri	16
1.1.4.2. Androjen bağımsız prostat kanseri	17
1.1.4.3. Prostat kanserinde görülen mutasyonlar	18
1.1.4.4. Prostat kanserinin tanı ve tedavisi	19
1.2. Gempitabin	20
1.3. Anestezi	21
1.3.1. Anestezikler ve kanser	22
1.3.2. Propofol	24
2. KAYNAK ÖZETLERİ	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM	30
3.1. Materyal	30

3.2. Yöntem.....	32
3.2.1. Hücre kültürü	32
3.2.1.1. DU145 ve PC3 hücre hatlarının kültüre edilerek çoğaltılması.	32
3.2.1.2. Hücre sayımı	32
3.2.1.3. Hücrelerin 96 kuyucuklu platelere ekilmesi	33
3.2.1.4. Gemsitabinin hazırlanışı.....	33
3.2.1.5. Propofolün hazırlanışı	33
3.2.2. Gemsitabin ve propofolün hücrelere uygulanması	34
3.2.3. Sitotoksikite analizleri	34
3.2.4. LDH sitotoksikite yöntemi	35
3.2.4. Toplam antioksidan kapasite (TAK) analizi	36
3.2.5. Total oksidan durum (TOD) analizi	36
3.2.6. Western blot analizi.....	37
3.2.7. İstatistikî analiz	39
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	40
4.1. Araştırma Bulguları.....	40
4.1.1. Gemsitabin ve propofolün prostat kanseri hücreleri üzerine olan sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi.....	40
4.1.2. Gemsitabin ve propofolün prostat kanseri hücrelerinde oluşturduğu biyokimyasal yanıtlar	45
4.1.3. Gemsitabin ve propofolün etkilerinin moleküler düzeyde değerlendirilmesi.....	49
4.2. Tartışma.....	50
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ.....	74

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

μ l	Mikrolitre
ml	Mililitre
mg	Miligram
μ l	Mikrolitre
α	Alfa
β	Beta

Kısaltmalar

• OH	Hidroksil radikali
4EBP1	Translasyon başlatıcı faktör 4E bağlayıcı protein 1
CaMK II	Ca ²⁺ + / kalmodulin bağımlı protein kinazlarının II
CDK	Sikline bağlı kinaz
CTMP	Karboksi terminal modüle edici proteindir
CVDK-8	Cell viability detection kit-8
DAC	5-aza-2'-deoksisitidin
DKK	Dickkopf proteini
DMSO	Dimetil sülfoksit
Dsh	Disheveled molekülü
ER	Endoplazmik retikulum
ETS	E26 transformasyona özgü füzyonlar
FBS	Fetal Bovine Serum
Fz	Frizzled reseptörü
GEF	Guanin nükleotid değişim faktörü
GPCR	G protein-bağı reseptörlerine
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IC ₅₀	Yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu
ILK	İntegrin bağlı kinaz
LDH	Laktat dehidrogenaz

MAPK	Mitojenle Aktive Protein Kinaz
mTOR	Rapamisinin Memeli Hedefi
NLK	Nemo benzeri kinazlar
NMDA	N-metil-Daspartat
O ₂ ⁻	Süperoksit anyonu
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDK	Fosfoinositide bağımlı kinaz 2
PDK1	Fosfoinositide bağımlı kinaz 1
PI3K	Fosfatidilinositol 3-kinaz
PTEN	Fosfataz ve tensin homologu
ROS	Reaktif oksijen türevleri
RTK	Reseptör tirozin kinaza
S6K	S6 kinaz
sFRP	Salgılanmış Frizzled-ilişkili proteinler
SH2	Src homologisi 2
SOCs	Sitokin sinyalleme baskılayıcıları
SOD	Süper oksit dismutaz
TAK	Toplam Antioksidan Kapasite
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylendiamine
TOD	Total Oksidan Durum
TRAF	TNF reseptörü ile ilişkili faktör
TRVP6	Geçici reseptör potansiyel alt familya V üye 6
TSC 1	Hamartin
TSC2	Tümör baskılayıcı tuberinin
VGSC	Voltaj kapılı sodyum kanalı
WIF	Wnt inhibe edici protein
Wls/Evi	Wntless / Evenness interrupted proteini

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Karsinogenezin safhaları.....	2
Şekil 1.2. MAPK yolağının moleküler mekanizması	6
Şekil 1.3. P53'ün aşağı akış efektörleri.....	8
Şekil 1.4. Wnt / β -katenin yolağının moleküler mekanizması	10
Şekil 1.5. JAK/STAT yolağının moleküler mekanizması.....	12
Şekil 1.6. PI3K/Akt/mTOR yolağının moleküler mekanizması	14
Şekil 1.7. İnsan prostat kanalında bulunan hücrelerin şematik gösterimi.....	16
Şekil 1.8. Androjen bağımsız prostat kanseri için önerilen yolakların şematik gösterimi	18
Şekil 1.9.İlerlemiş prostat kanserinde mutasyon geçirdiği düşünülen muhtemel genler ve görev aldığı yolaklar	19
Şekil 1.10. Propofolün moleküler yapısı.....	25
Şekil 4.1. Gempitabin ve propofol maruziyeti sonrası DU145 hücrelerinde gözlenen hücre canlılık yüzdeleri..	41
Şekil 4.2. DU145 hücrelerinde gempitabin ve propofol inkübasyonu sonrası gözlenen sitotoksosite değerleri.....	42
Şekil 4.3. Gempitabin ve propofol maruziyeti sonrası PC3 hücrelerinde gözlenen hücre canlılık yüzdeleri..	43
Şekil 4.4. PC3 hücrelerinde gempitabin ve propofol inkübasyonu sonrası gözlenen sitotoksosite değerleri	44
Şekil 4.5. İn vitro koşullar altında, gempitabin ve propofolün DU145 hücrelerinde neden olduğu TAK değerleri.....	45
Şekil 4.6. İn vitro koşullar altında, gempitabin ve propofolün DU145 hücrelerinde neden olduğu TOD değerleri.....	46
Şekil 4.7. İn vitro koşullar altında, gempitabin ve propofolün PC3 hücrelerinde neden olduğu TAK değerleri.....	47
Şekil 4.8. İn vitro koşullar altında, gempitabin ve propofolün PC3 hücrelerinde neden olduğu TOD değerleri.....	48
Şekil 4.9. Gempitabin ve propofol maruziyeti sonrası A: DU145 ve B: PC3 hücrelerinin pGSK3 β seviyesi	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Prostat kanseri için sırasıyla uygulanan standart tedaviler	20
Çizelge 1.2. Kanser araştırmalarında çalışılmış bazı anestezipler ve çalışıldığı kanser türleri	23
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan kit ve kimyasal listesi	30
Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan cihaz listesi	31
Çizelge 3.3. Gemcitabin ve propofolün DU145 ve PC3 hücrelerine uygulanan konsantrasyonları	34
Çizelge 3.4. TAK bileşenleri ve miktarları	36
Çizelge 3.5. TOD bileşenleri ve miktarları	37
Çizelge 3.6. SDS-PAGE için %4'lük yürütme jelinin hazırlanışı	38
Çizelge 3.7. SDS-PAGE için %10'luk ayırma jelinin hazırlanışı	38

1. GİRİŞ

1.1 Kanser

Kanser, sigara, alkol, besin değeri bakımından yetersiz gıdaların tüketimi, çeşitli virüsler ve obezite gibi risk faktörlerinin sebep olduğu mutasyonların zamanla hücrede birikmesine ek olarak genetik yatkınlığın da etkisi ile hücre çoğalması ve ölümü arasındaki dengenin bozulmasıyla meydana gelen, hücrenin kontrolsüz ve aşırı bir şekilde bölünmesiyle karakterize olan önemli bir sağlık sorunudur (Danaei et al. 2005; Hanahan and Weinberg 2011). Amerika Birleşik Devletleri'nde erkeklerde en çok akciğer, bronşit, trake ve prostat kanserleri görülür. Fakat en çok ölüme sebep olan kanser tipi akciğer, trake ve karaciğer olarak sıralanır (Torre et al. 2015; Siegel et al. 2020). Kadınlarda ise en çok meme, kolon ve rektum kanserleri görülmesine rağmen en çok ölüm meme, akciğer ve trake kanserlerinde meydana gelir (Torre et al. 2015; Siegel et al. 2020).

1.1.1 Kanser biyolojisi

Kanser oluşumu yani karsinogenez, hücrelerin geçirdiği mutasyonların etkisi ile başlangıç, oluşum ve yayılım olmak üzere üç aşamalı bir süreçtir. Onkogen aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu gibi mutasyonlar genellikle hücrelerin mutasyona en hassas oldukları faz olan hücre bölünmesinde meydana gelerek karsinogenezi başlatır. Bu safhada apoptozdan kaçış, büyümeyi kısıtlayan ve engelleyen sinyallerin üstesinden gelme gibi özellikler kazanılır (Stetler-Stevenson and Yu 2001). İleri mutasyonların da meydana gelmesi ve hücrede birikmesi ile oluşum safhasına geçen hücreler yavru hücrelere aktarılabilen ölümcül olmayan kalıtsal değişikliklere uğrarlar. Son safha olan yayılım ise anjiyojenik yanıtı süreklileştirilmesi, yerel ve uzak dokuların istilas (invazyon ve metastaz) olayları sonucunda ortaya çıkar (Stetler-Stevenson and Yu 2001; Aydın et al. 2013).

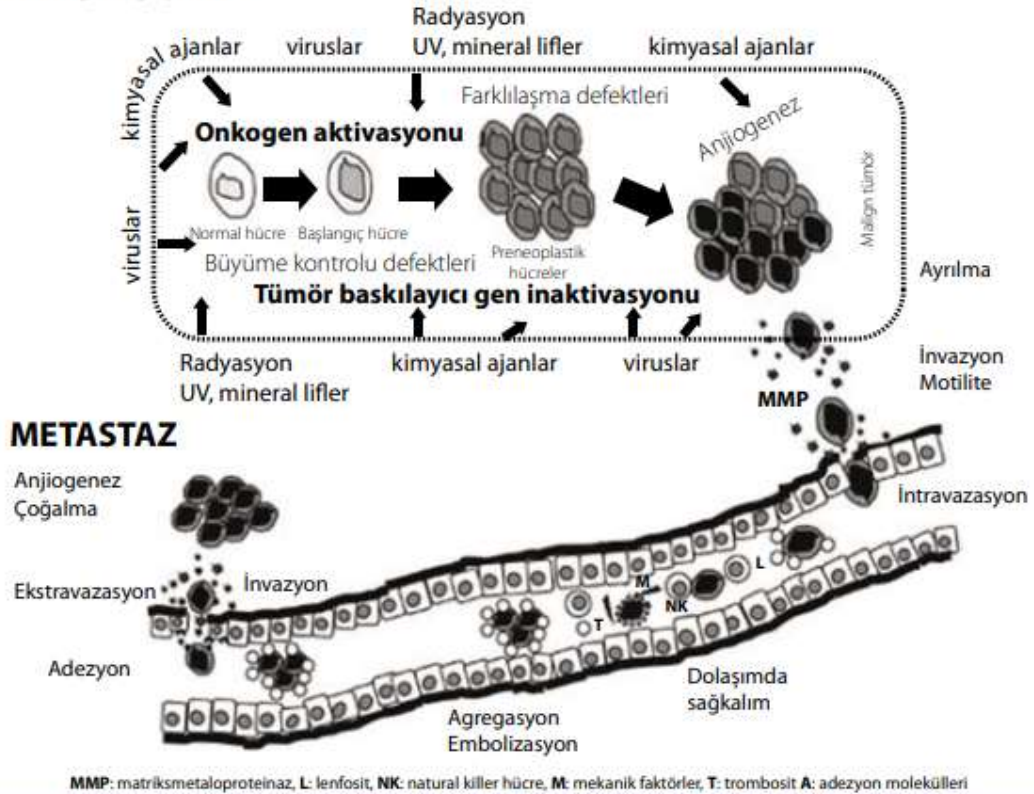
Kanser oluşumdaki hücre bölünmesi, farklılaşması ve apoptoz ile ilgili mekanizmalar normal hücreler ile benzerlik göstermesine rağmen bu mekanizmaların kontrolü ve düzenlenmesinde çeşitli problemler mevcuttur.

Hücre bölünmesi G₁, S, G₂ ve M fazlarından oluşan bir döngüdür. Bu fazlara ek olarak kanser hücresi gibi hücre döngüsünden kaçan veya bölünmeyen hücrelerin girdiği

1. GİRİŞ

G₀ fazı bulunmaktadır (Zetterberg and Larsson 1985). Hücre döngüsü boyunca ilerleme, serin / treonin kinazların sikline bağlı kinaz (CDK) ailesi ve bunların düzenleyici ortakları olan siklinler tarafından yönlendirilir (Malumbres and Barbacid 2006). G₁ safhasında ilerleme Siklin D - CDK4, siklin D - CDK6 ve siklin E - CDK2 kompleksleri vasıtasıyla gerçekleşir (Planas-Silva and Weinberg 1997). S fazı siklin A - CDK2 ile başlatılırken G₂ boyunca ilerlemeyi ve mitozaya geçişi siklin B - CDK1 düzenler (Nigg 2001). Hücre döngüsünde bulunan bu fazların birinden diğerine geçiş hücre döngüsü kontrol noktaları denen sensör mekanizmaları tarafından kontrol edilir (Hartwell and Weinert 1989). Bu sensör mekanizmalar DNA hasarı gibi hatalı hücre döngüsü olaylarından birini tespit ederse sorun çözülene kadar hücre döngüsünü geri dönüşümlü olarak durduracak sinyalleri CDK inhibitörleri gibi efektör proteinlere iletir (Bartek et al. 2004; Musacchio and Salmon 2007). Hücre döngüsünde bu kontrol noktalarında oluşabilecek herhangi bir düzensizlik malign fenotip ile karakterize olan kontrolsüz hücre çoğalmasının temelini oluşturur (Williams and Stoeber 2012) (Şekil 1.1).

KARSİNOGENEZ



Şekil 1.1. Karsinogenezin safhaları (İçli 2005'ten alınmıştır).

Apoptozis, bir hücrenin aldığı belirli uyarıların etkisiyle ve aktif olarak ölüme doğru programlı olarak ilerlediği duruma denir (Wong 2011). Hücre membranında

bulunan ölüm reseptörlerinin, mitokondriyal aktivitenin ve içsel endoplazmik retikulum yolunun tetiklemesi ile başlayan apoptozis kaspazların aktivasyonu, DNA ve proteinlerin yıkılması, hücre zarının morfolojik değişimi ve fagositik hücreler tarafından tanınması ile karakterizedir (Hengartner 2001). Sistein proteaz ailesine ait bir grup olan ve kesilerek aktive olan kaspaz proteinleri hayati önemi olan proteinleri, nükleer iskeleyi ve hücre iskeletini yıkıp DNAaz'ı aktive eder (Wong 2011). Daha sonra DNA 50 ile 300 kilobaz büyüklüğünde fragmentler halinde parçalanır (Wong 2011). 50 ile 300 kilobazlık fragmentler ise 180 ile 200 baz çiftlik parçalara ayrılır (Wong 2011). Hücre zarının dış yüzeyinde bulunan fosfatidilserinlerin hücre zarının dışına doğru çevrilmesi apoptozisin erken safhalarında meydana gelir (Hengartner 2001). Bu değişim ölen hücrelerin enflamasyona sebep olmaksızın makrofajlar tarafından fagosit edilmelerini sağlar (Hengartner 2001). Hücre ölümü ile sağ kalım arasındaki denge ise pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin dengeli işleyişi sayesinde sağlanır.

Pro-apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin bozulmuş dengesi, azaltılmış kaspaz fonksiyonu ve bozulmuş ölüm reseptörü sinyali genel olarak apoptozdan kaçma yolları olarak tanımlanır ve karsinogenez ile yakından ilişkilidir (Wong 2011).

Yeni kan damarlarının oluşumunu ifade eden anjiyogenez, diğer adıyla neovaskülarizasyon, erken embriyonik gelişim sırasında plasantanın ve embriyo dışı zarların oluşumu gibi fizyolojik, kanserli hücrelerin yayılımı gibi patolojik süreçlerde rol alır (Risau 1993). Anjiyogeneze ek olarak invazyon, sağlıklı bireylerde görülen embriyonik gelişimdeki hücre göçü, embriyonun uterus duvarına implantasyonu, monositlerin göç etmesi olaylarının dışında kanserli hücrelerin yayılımında komşu dokuları istila etme mekanizması olarak karsinogenezde rol alır (Moscatelli and Rifkin 1988).

1.1.2 Kanser ve oksidatif stres

Oksijenin normal metabolik süreçlerde belirli moleküller ile etkileşime girmesi sonucunda oluşan reaktif oksijen türevleri (ROS) (süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\bullet OH$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) vb.), son enerji katmanlarında bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran aşırı reaktif atomlar veya moleküllerdir (Birben et al. 2012; Chandrasekaran et al. 2017). Hücre içinde düşük ile orta konsantrasyonlarda bulunan serbest radikaller, fizyolojik hücre süreçlerinde işlev görürken yüksek konsantrasyonları lipitler, proteinler ve DNA gibi hücre bileşenlerine saldırarak zarar

verir (Siems et al. 1995; Wang et al. 1996; Marnett 1999; Stadtman 2004; Halliwell and Gutteridge 2015; Valko et al. 2006;). Hücreyi bu saldırıdan korumak için hücre içinde geliştirilen savunma sistemine ise antioksidan savunma sistemi denir (Burton and Jauniaux 2011). Antioksidan savunma sistemi SOD (süperoksit dismutas), katalaz ve GSH-Px gibi enzimatik ve C ve E vitaminleri, β -karoten ve glutatyon gibi non-enzimatik bileşenlerden oluşur (Birben et al. 2012). Hücre içi antioksidan-oksidan dengesinin bozulması ve oksidan miktarının hücre içinde artması sonucunda oksidatif stres adı verilen zararlı bir durum hücre içinde meydana gelir (Burton and Jauniaux 2011). Oksidatif stres, kanser, nörolojik bozukluklar, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemi / perfüzyon, diyabet, akut solunum sıkıntısı sendromu, idiyopatik pulmoner fibroz, kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi birçok patolojik duruma yol açar (Kukreja and Hess 1992; Toshniwal and Zarling 1992; Asami 1997; Kerr et al. 1999; Dhalla et al. 2000; Sayre et al. 2001; Andreadis et al. 2003; Jenner 2003; Comhair et al. 2005a, 2005b; Kašparová et al. 2005; Ercan et al. 2006; Dut et al. 2008; Fitzpatrick et al. 2009).

Uzun süreli çevresel stres kronik ROS üretimine sebep olur ve meydana gelen oksidatif stres inflamasyon ve enfeksiyon gibi çeşitli patolojik durumlarla ilişkilidir. Hücre içinde artan ROS'a tepki olarak sinyal yolları uyarılır. Hücre yapısı ve fonksiyonlarında önemli hasarlar meydana gelerek somatik mutasyonlarda artış ve neoplastik transformasyon meydana gelebilir (Khandrika et al. 2009). Başlıca başlangıç, oluşum ve yayılım olarak tanımlanan karsinogenezde oksidatif stresin de payı büyüktür (Ames and Gold 1992; Guyton and Kensler 1993). Başlangıç safhasında ROS, DNA'da gen mutasyonları ve yapısal değişikliklere sebep olur (Klaunig et al. 1998). Oluşum safhasında ROS anormal gen ekspresyonuna, hücre-hücre iletişiminin bloke edilmesine ve ikinci mesajlaşma sistemlerinin modifikasyonuna yol açar (Klaunig et al. 1998). Böylece hücre populasyonunun proliferasyonunda artış meydana gelirken kontrollü hücre ölümü azalır (Klaunig et al. 1998). Oksidatif stres DNA'da ek mutasyonların oluşumuna sebep olarak yayılım safhasında da rol oynar (Klaunig et al. 1998).

1.1.3 Kanserde rol alan sinyal yolları

1.1.3.1 Mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) yolağı

Hücre dışı uyaranların hücrel bir tepkiye dönüştürülmesinde görevli olmasının yanı sıra hücre içi oksidatif ve endoplazmik retikulum (ER) stresi gibi olaylar sonucunda tetiklenebilen yollardan biri olan mitojenle aktive protein kinaz (MAPK) yolu proliferasyon, göç, farklılaşma, hayatta kalma veya apoptoz, otofaji ve enflamatuvar reaksiyonlar gibi birçok hücrel görevden sorumludur (Kim and Choi 2015; Lake et al. 2016). Ayrıca bu yolak üç hiyerarşik aşamaya sahiptir. MAPK yolağının sahip olduğu hiyerarşik katmanlar upstream kinazdan downstream kinaza doğru MAPK kinaz - kinaz (MAPKKK), MAPK kinaz (MAPKK) ve MAPK olarak sıralanır (De Luca et al. 2012). MAPK yolağında MAPKKK üyelerinin aktive ettiği dört farklı ana MAPK ayağı vardır. Bunlardan birincisi Raf (A-Raf, B-Raf ve C-Raf(Raf 1)) → MEK1/2 → ERK1/2, ikincisi MEKK1, MEKK2 / 3 → MKK4/7 → JNK, üçüncüsü ASK1, TAK1, MEKK1 → MKK3/6 → p38 ve dördüncüsü MEKK2/3 → MEK5 → ERK5'dir (Robinson and Cobb, 1997; Delire and Stärkel, 2015). Bu dört ayağa ek olarak ERK 3/4, ERK 7/8 ve Nemo benzeri kinazlar (NLK) yolları bulunsa da tipik MAPK yolları olarak yukarıda bahsettiğimiz diğer dört yolak kabul görmektedir (Delire and Stärkel 2015).

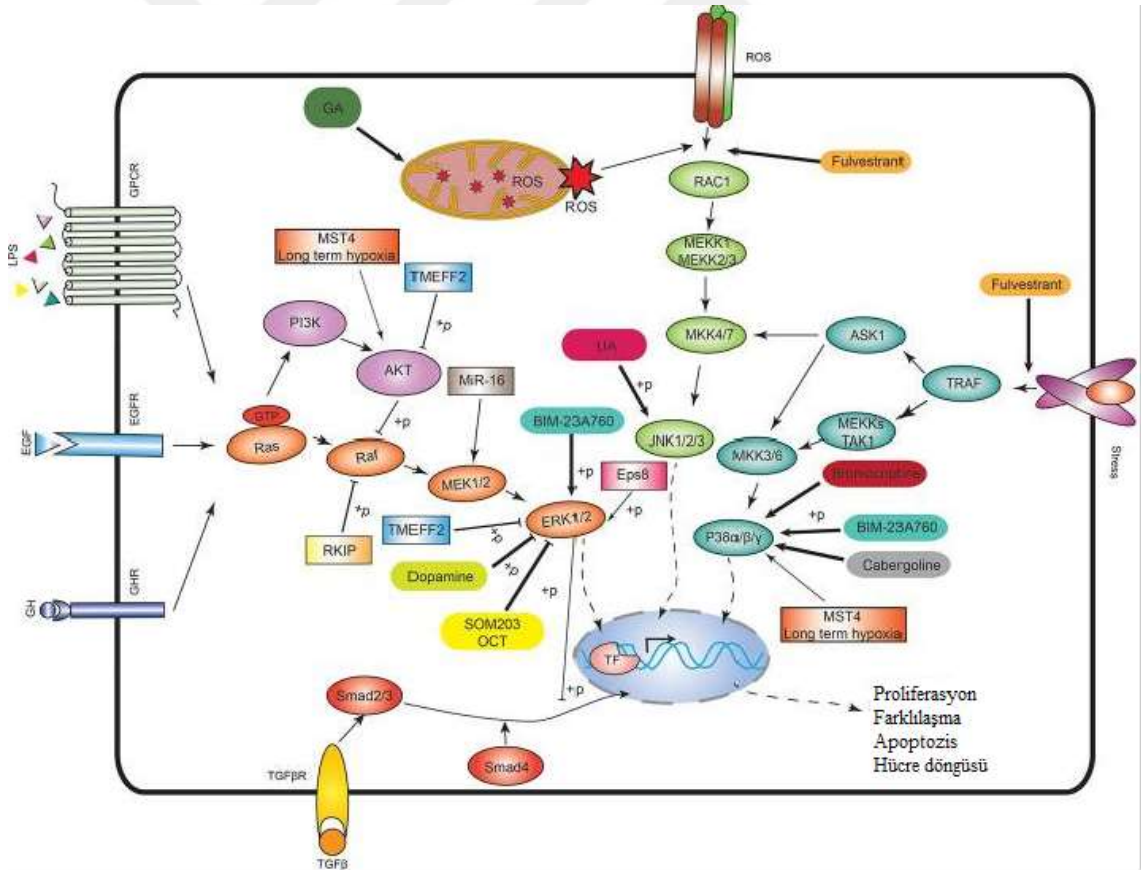
MAPK yolağının aktivasyonu hücre yüzeyine yerleşmiş spesifik bir reseptör tirozin kinaza (RTK) spesifik bir ligandın bağlanması ile başlar (Lake et al. 2016). Ligand-reseptör etkileşiminden sonra otofosforilasyon ile aktifleşen reseptörün hücre içi uzantısına Src homolojisi 2 (SH2) domaini vasıtasıyla bağlanan Grb2 proteini SH3 domaini vasıtasıyla da SOS proteinlerine bağlanır (Lake et al. 2016). Bu bağlanmayı takiben SOS proteinleri RAS-güanozin difosfat kompleksini fosforilleyerek RAS-güanozin trifosfat'a dönüştürme yetisine sahip ana güanin nükleotid değişim faktörü (GEF) rolü vasıtasıyla RAS aktivasyonunu sağlar (Gureasko et al. 2008). Aktive olan RAS-GTP kompleksi bu yolağın ilk ayağının Raf üyesinin zara taşınması sonucunda Raf'ı fosforilleyerek aktive eder (Chong et al. 2003; Lavoie and Therrien 2015). Bu aktivasyonu takiben ardışık bir şekilde birbirini fosforilleyecek olan MAPKK ve MAPK sinyal kaskadı Raf tarafından başlatılmış olur. Fosforilasyon sonucu aktive olan MEK1/2, ERK1/2'yi fosforilleyerek aktive eder (Lake et al. 2016). Aktif ERK1/2 hücre çekirdeğine göç ederek çekirdek içinde veya sitoplazmada konuşlanarak çekirdek dışında bulunan

1. GİRİŞ

hedeflerinin (kinazlar, fosfatazlar, transkripsiyon faktörleri, sitoskeletal proteinler vb.) fosforilasyonunu sağlayarak çeşitli hücrel yanıtı oluşturmayı başarır (Yoon and Seger 2006; Dhillon et al. 2007).

MAPK yolağının ikinci ayağının ilk üyesi olan RAC1 hücre içi ROS artması durumunda MEKK1 veya MEKK2 / 3'ü fosforilleyerek aktive eder. Bu basamağı takiben MEKK1 veya MEKK2 / 3, MKK4/ 7'yi aktive eder. Aktive olan MKK4/7 ise JNK1/2/3'ün fosforilasyonunu gerçekleştirir. Aktive olan JNK1/2/3 çekirdeğe aldığı sinyali iletir (Lu et al. 2019).

MAPK yolağının üçüncü ayağı olan p38 sinyalizasyonu stres altında olan hücrede ASK1, TAK1 veya MEKK1'in TNF reseptörü ile ilişkili faktör (TRAF) tarafından aktive edilir. Aktif form kazanan ASK1, TAK1 veya MEKK1, MKK3 / 6'nın aktivasyonunu sağlar. MKK3/6 ise p38 izoformlarını fosforilleyerek çekirdek içine sinyal iletimini sağlar (Lu et al. 2019) (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. MAPK yolağının moleküler mekanizması (Lu 2019'dan değiştirilerek alınmıştır).

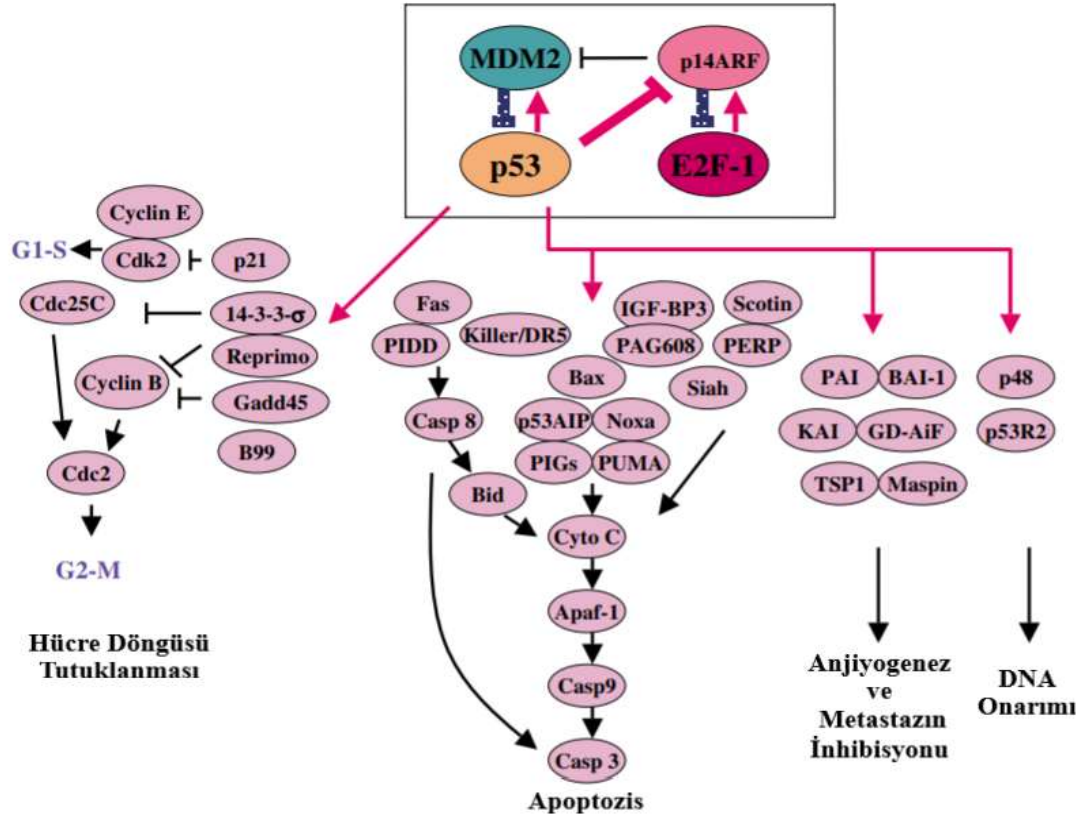
1.1.3.2 P53 yolağı

DNA replikasyonunu, kromozom ayrışmasını ve hücre bölünmesini takip eden hücrel homeostatik mekanizmalar üzerinde etkili olan P53 yolu, iyonize radyasyon, anormal büyüme sinyalleri, çok çeşitli kemoterapötik ilaçlar, ultraviyole ışık, protein-kinaz inhibitörleri gibi çeşitli iç ve dış stres sinyallerine yanıt vermeyi hedefleyen genler ağından ve onların ürünlerinden oluşur (Vogelstein et al. 2000). P53 ağında yer alan bu genler, hücre döngüsünün durması (G1 veya G2'de tutuklanma), hücrel yaşlanma veya apoptoz ile sonuçlanan üç programdan birini başlatır (Harris and Levine 2005).

G1 fazından S fazına geçiş, hücre döngüsünde ilerlemeyi sağlayan bir transkripsiyon faktörü olan E2F1 tarafından sağlanır (Harris and Levine 2005). P53'ün uyardığı p21'in Cdk2-siklinE kompleksini inhibe etmesi Rb proteininin E2F1 ile kompleks oluşturmaya sebep olarak S fazına geçişte gerekli olan genlerin okunmasını engeller ve böylece G1'de tutuklanmaya sebep olur (Harris and Levine 2005).

Hücre döngüsünün bir diğer kontrol noktası olan G2-M'de DNA hasarının tespit edilmesi sonucunda P53'ün uyarılması ile 14-3-3 σ proteini CDC25C'nin sitoplazmadan çekirdeğe göçünü engellemek üzere CDC25C'ye bağlanır (Harris and Levine 2005). Bu bağlanmanın sonucunda G2'den M'ye geçişinde gerekli olan siklinB-CDC2 defosforillenmesi gerçekleşmediği için G2'de tutuklanma meydana gelir (Harris and Levine 2005).

P53 tarafından düzenlenen birkaç gen (bax, noxa, puma) sitokrom c'nin, mitokondriden sitoplazmaya geçişini kolaylaştırır. Bu basamağı takiben sitokrom c, APAF1 ile etkileşerek sırasıyla pro-kaspaz 9 ve 3'ün kesilerek aktive olmasını sağlayarak hücreyi iç uyaranlar vasıtasıyla apoptoza götürür (Harris and Levine 2005) (Şekil 1.3).

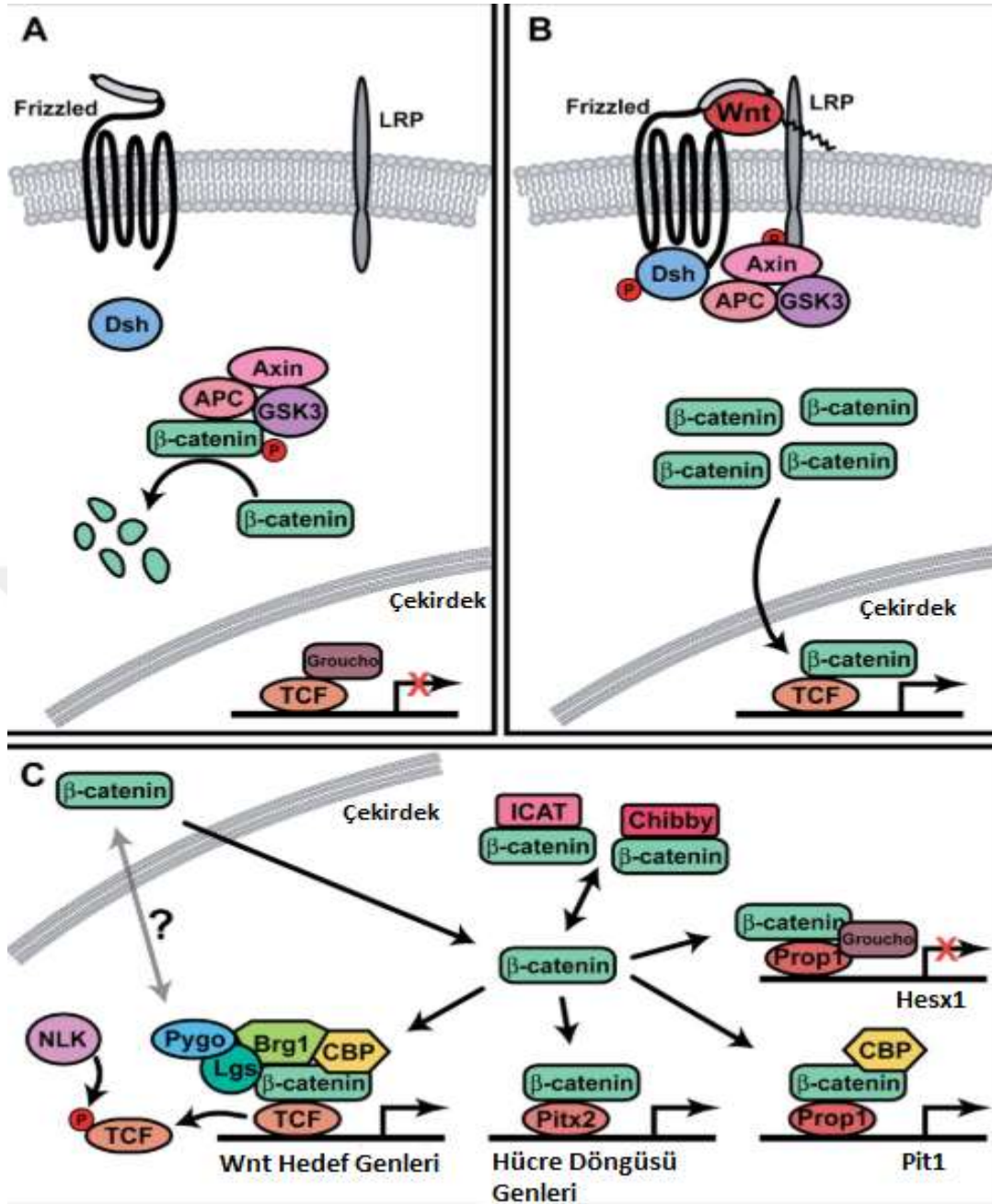


Şekil 1.3. P53'ün aşağı akış efektörleri (Harris and Levine 2005'ten değiştirilerek alınmıştır).

1.1.3.3 Wnt/ β -katenin yolu

Hayvanlar âleminde önemli gelişimsel ve homeostatik süreçlerden sorumlu olan Wnt proteinleri çok sayıda korunmuş sistein rezidüsü içerir (Logan and Nusse 2004). Sahip oldukları N-terminal sinyal peptitlerine rağmen hücre içerisinde sentezlendikten sonra aktif form kazanmaları için Wnt proteinlerine endoplazmik retikulumda Porcupine vasıtasıyla palmitoleik asit eklenir (Clevers 2006; Takada et al. 2006). Bu modifikasyonu takiben aktive olan Wnt proteininin yedi geçişli bir transmembran proteini olan Wntless / Evenness interrupted (Wls/Evi) yardımı ile hücre dışına taşınımı gerçekleşir (Coudreuse 2006). Bu aşamadan sonra Wnt proteinleri kanonik Wnt / β -katenin kaskadı, kanonik olmayan düzlemsel hücre polaritesi yolu (PCP) ve Wnt / Ca^{2+} yolu olmak üzere üç farklı yolağı aktive edebilirler (Clevers 2006). Bu yollardan en iyi anlaşılanı kanonik Wnt / β -katenin kaskadıdır.

Hücre dışına çıkan Wnt proteinleri hücre dışına uzanan sistein bakımından zengin bir N-terminal domaine(CRD) sahip olan Frizzled (Fz) reseptörlerine CRD aracılığı ile bağlanır (Bhanot et al. 1996). Wnt ile bağlanan Fz proteinleri bir transmembran proteini olarak çalışan ve omurgalılarda LRP 5/6, *Drosophila*'da Arrow olarak bilinen LRP proteinleri ile etkileşir (Pinson et al. 2000; Tamai et al. 2000; Wehrli et al. 2000). Bu etkileşimin ardından Axin molekülü ve bu molekülle bağlı bir şekilde APC ve GSK3 molekülleri LRP'nin sitoplazmik uzantısına eklenir (Mao et al. 2001). Ardından Fz proteininin sitoplazmik uzantısı ile etkileşim halinde olan Disheveled (Dsh) molekülü ve LRP ile etkileşim halinde olan Axin molekülünün DIX domainleri birbirleri ile kenetlenerek LRP-Fz dimerini oluşturur (Clevers 2006; Fiedler et al. 2011). Herhangi bir Wnt sinyalizasyonu olmadığı durumda β -katenin ile etkileşim halinde olan Axin, APC, CK1 ve GSK3, β -katenin'in fosforilasyonunu ve bu fosforilasyonu takiben ubiquitinasyon sonucu yıkımını teşvik eder (Gordon and Nusse 2006). Axin, APC ve GSK3'ün β -katenin 'den ayrılıp LRP'ye bağlanması sonucunda serbest kalan β -katenin çekirdeğe göç eder. Çekirdekte transkripsiyon faktörü olarak TCF'nin görev yapmasını engelleyen Groucho'yu ortamdan uzaklaştırarak TCF'ye bağlanır. TCF üzerine Brg1, CBP, Cdc47, Bcl9 ve Pygopus gibi histon modifikasyonunda görevli molekülleri çekerek hücrel olayların akışını düzenler (Clevers 2006; Gordon and Nusse 2006) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Wnt / β -katenin yolağının moleküler mekanizması (Clevers, 2006'dan değiştirilerek alınmıştır).

Wnt inhibe edici protein (WIF) ve Salgılanmış Frizzled-ilişkili proteinler (sFRP), Wnt antagonistlerinin ilk ailesidir. Hücre dışına salgılanan Wnt proteinlerine doğrudan bağlanarak Wnt'nin Fz ile birleşimini engeller ve sinyal iletimini inhibe ederler (Bovolenta et al. 2008). Ayrıca sFRP'ler Fz'lere de bağlanarak Wnt ile bağlanmasını önler (Bovolenta et al. 2008). LRP ve Fz etkileşimini önlemek için ise LRP5/6'ya bağlanan Dickkopf (DKK), SOST/WISE proteinleri Wnt antagonistlerinin ikinci ailesini oluşturur (Glinka et al. 1998; Mao et al. 2002). Ayrıca Shiga proteinleri de Fz proteinlerini

endoplazmik retikulumda hapsederek hücre yüzeyine çıkmasını önleyen bir diğer antagonisttir (Yamamoto et al. 2005).

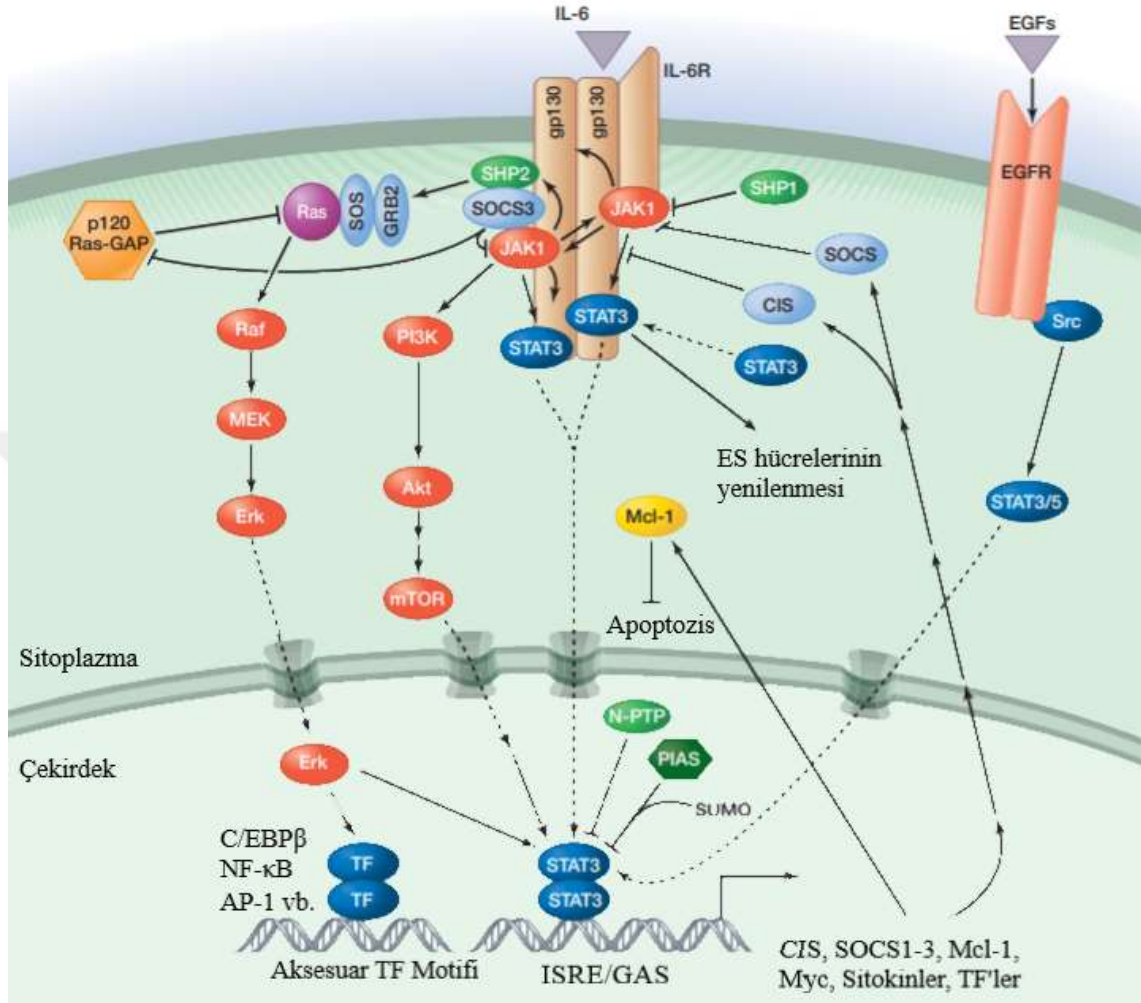
Wnt/ β -katenin yolağında β -katenin'in yıkımında rolü olan ve tümör supresör işleve sahip olan Axin, APC ve WTX proteinlerinde fonksiyon kaybı mutasyonlarının, β -katenin de ise fonksiyon kazanımı mutasyonlarının kansere sebep olduğu bilinmektedir (Nishisho et al. 1991; Korinek 1997; Satoh et al. 2000; Major et al. 2007).

1.1.3.4 Janus kinaz / sinyal transdüserleri ve transkripsiyon (JAK / STAT) yolu

Dört JAK (JAK1, JAK2, JAK3 ve TYK2), yedi Stat (STAT 1-4, STAT 5A / B ve STAT 6) ve yaklaşık 40 sitokin reseptörü üyesi ile JAK/STAT yolu, memelilerde hematopoez, immün gelişim, meme bezi gelişimi ve laktasyon, adipogenez, eşeyssel dimorfizm gibi durumlarda önem arzeden hücre çoğalması, farklılaşması, hücre göçü ve apoptoz olaylarını uyaran bir yolaktır (Rawlings 2004; Murray 2007; Ghoreschi et al. 2009; Harrison 2012). Bu yolağın aktivasyonunun ilk basamağı hücre zarı üzerinde bulunan kinaz aktivitesinden yoksun reseptörlere eritropoitein, büyüme faktörü, interferon veya interlökin türevi ligandların bağlanmasıdır (Bousoik and Montazeri Aliabadi 2018). Hücre yüzey reseptörlerine eritropoiteinler veya büyüme faktörleri bağlanması durumunda reseptörler homodimer oluştururken interferon veya interlökinlerin bağlanması durumunda heteromultimerler oluştururlar (Villarino et al. 2015). Reseptör-ligand bağlanmasını takiben kinaz aktivitesinden yoksun reseptörlerin sahip oldukları sitoplazmik alanlar ile zara yakın bulunan JAK bağlanma bölgeleri yoluyla JAK'larla etkileşime geçer ve JAK molekülleri birbirine yakın bir şekilde reseptörün uç kısmında konumlanır (Murray 2007; Bousoik and Montazeri Aliabadi 2018). Bu yaklaşmanın bir sonucu olarak JAK molekülleri sahip oldukları JH1 domainleri ile birbirlerini fosforilleyerek STAT ile etkileşime geçmesi için kenetlenme bölgeleri oluşturur (Ungureanu et al. 2011). STAT'lar yapılarında bulunan SH2 domaini vasıtasıyla JAK molekülleri ile etkileşime geçtikten sonra JAK molekülleri STAT moleküllerini C terminal tirozin kalıntılarından fosforiller (Decker and Kovarik 2000; Bousoik and Montazeri Aliabadi 2018). Fosforillenmenin bir sonucu olarak STAT molekülleri aktive olur ve SH2 domaini aracılığı ile diğer STAT ailesi üyeleri ile homodimer veya heterodimer yapılar oluşturarak çekirdeğe göç eder (Subramaniam et al.

1. GİRİŞ

2001; Yu et al. 2009). Çekirdeğe göç eden STAT dimerleri genellikle transkripsiyon faktörü olarak iş görerek hedef genleri aktifleştirir (Bousoik and Montazeri Aliabadi 2018) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. JAK/STAT yolağının moleküler mekanizması (Harrison 2012'den değiştirilerek alınmıştır).

Bu yolağın stabilizasyonu ve inhibisyonu üzerine tanımlı birkaç durum vardır (Kisseleva et al. 2002);

- Hücre yüzeyindeki reseptörlerin endositozu veya proteolizi ile uzun süreli hücre içine sinyal iletiminin engellenmesi,
- Sitokin sinyallemeinin önüne geçmek için sitokinlerin ubiquitin-proteozomal bağımlı bozunumu,
- Tirozin fosforilasyonuna bağlı olarak aktive olan JAK moleküllerinin SHP molekülleri vasıtasıyla defosforilasyonu ile inaktivasyonu,

- SH2 domaini içeren sitokin sinyalleme baskılayıcıları (SOCs) tarafından STAT moleküllerinin fosforilasyonunu engelleyen negatif geri besleme mekanizmasının varlığı.

1.1.3.5 Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) /Akt/ rapamisinin memeli hedefi (mTOR) sinyal yolu

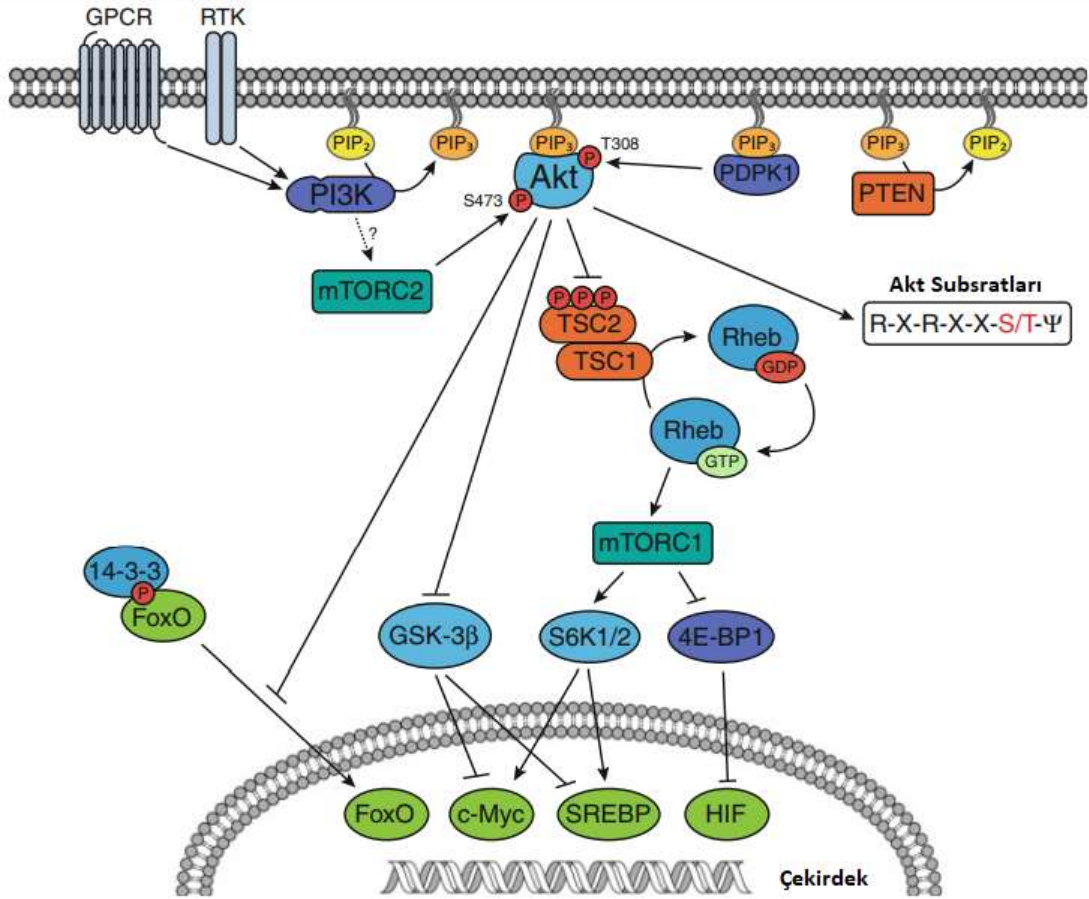
Hücrede transkripsiyon, translasyon, proliferasyon, büyüme, göç, hücre iskeleti yeniden düzenlemesi ve hayatta kalma gibi temel fonksiyonları düzenleyen; birçok hücrel uyaran ve toksik madde tarafından harekete geçirilebilen Fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) /Akt / rapamisinin Memeli Hedefi (mTOR) sinyal yolunda oluşan aksaklıklar başta kanser olmak üzere diyabet ve otoimmün rahatsızlıklara sebep olur (Datta et al. 1999; Vivanco and Sawyers 2002). Büyüme faktörlerinin hücre zarında bulunan RTK veya G protein-bağlı reseptörlerine (GPCR) bağlanması sonucunda uyarılan PI3K, hayatta kalma sinyali için gereken bir haberci olan ve hücre zarının iç kısmından zara tutunan PI(3,4,5)P3'ü üretmek ve insülin aktivasyonunu başlatmak için gene hücre zarının iç kısmından zar ile etkileşimde bulunan PI(4, 5)P2 inositol halkasının D-3 pozisyonunda fosforilleme işlemi gerçekleştirir (Fruman et al. 1998). PI(3,4,5)P3'ün üretilmesinden sonra Akt hücre zarına göç ederek PH domaini vasıtasıyla PI(3,4,5)P3 ile etkileşime geçerek iki ana fosforilasyon sahasının (kinaz bölgesinde Thr308 ve C terminal regülatöründe Ser473) ortaya çıkmasını sağlayan konformasyonel bir değişikliğe uğrar (Alessi et al. 1996; Osaki et al. 2004). Bu iki ana fosforilasyon sahasının fosfoinositide bağımlı kinaz (PDK1, PDK2) ve integrin bağımlı kinaz (ILK) tarafından fosforillenmesiyle Akt aktif hale gelerek hücre çoğalması ve sağkalımı ile ilgili yolların aktivasyonunu tetikler (Osaki et al. 2004). Ayrıca Akt'de bulunan bu iki fosforilasyon sahasının her ikisinin fosforillenmesi Akt aktivasyonunun daha etkin olması için bir ön koşuldur (Osaki et al. 2004).

PI3K / AKT / mTOR sinyal yolunun bir başka üyesi olan rapamisinin memeli hedefi (mTOR)'nin aktivitesinden mTORC1 ve mTORC2 olarak adlandırılan iki farklı kompleks sorumludur (Porta et al. 2014). mTOR'un bu şekilde adlandırılmasının sebebi antifungal bir ajan olan rapamisinin memeli hücrelerinde hedeflediği bir protein kompleksi olmasıdır (Lien et al. 2016). Bu proteinlerin mTORC1 kompleksi rapamisine aşırı hassasiyet gösterirken mTORC2 kompleksi rapamisine karşı daha az hassasiyet

1. GİRİŞ

gösterir (Hay 2004; Porta et al. 2014). mTOR, Raptor, mLST8, prolin bakımından zengin Akt substratı 40 kDa (PRAS40)' tan oluşan mTORC1 kompleksi protein translasyonu ve hücre büyümesini sağlamak için S6 kinazı (S6K) aktive ederken 4EBP1'i inaktive eder (Hay 2004). mTOR, Rictor, Sin1 ve mLST8'den oluşan mTORC2 kompleksinin normal hücre fonksiyonunda ve onkogenezdaki rolü iyi açıklanamamış olmasının yanı sıra Akt'yi aktive ederek hücre çoğalması ve sağ kalımı lehine çalıştığı bilinmektedir (Porta et al. 2014).

Ayrıca Akt, aşağı efektörü olan GSK3 β 'yi dokuzuncu pozisyonda bulunan serin amino asidinden fosforilleyerek inaktive eder ve G1 / S hücre döngüsü ilerlemesini pozitif olarak düzenleyen, artan siklin D1'e ve Forkhead ailesi transkripsiyon faktörleri ile tümör baskılayıcı tuberinin (TSC2) inhibisyonuna neden olan bir ağı tetikler (ter Haar et al. 2001; Porta et al. 2014) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. PI3K/Akt/mTOR yolağının moleküler mekanizması (Lien et al. 2016'dan değiştirilerek alınmıştır).

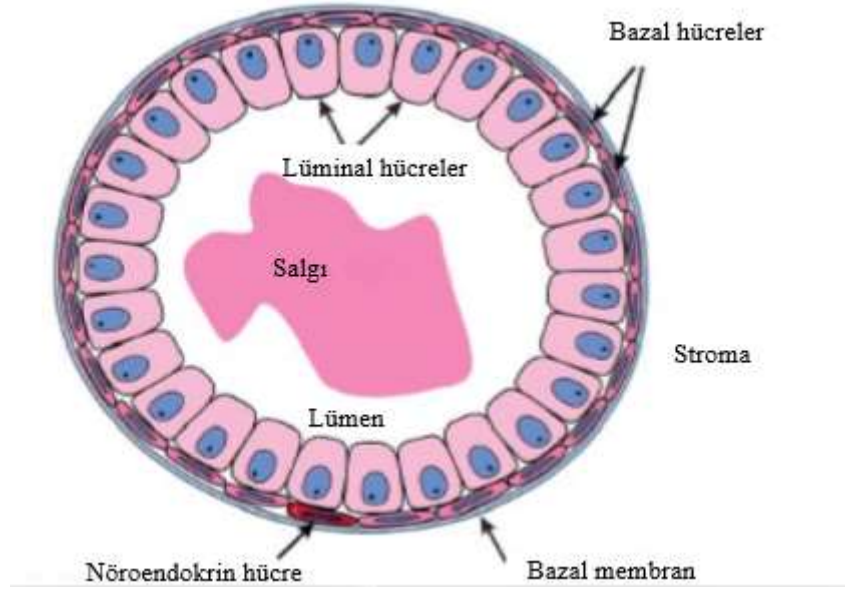
PI3K/Akt/mTOR yolağının aşırı hücre çoğalması üzerine olan etkisini dengelemek amacıyla bu yolak üzerinde iş gören birkaç protein mevcuttur. Bu

proteinlerden ilki PI(3,4,5)P3'ün üretimi için PI(4,5)P2'nin fosforilasyonunu ters yöne çeviren fosfataz ve tensin homologu (PTEN) iken ikincisi Akt'nin aktive edilmesi için fosforillenme işlemini inhibe eden karboksi terminal modüle edici proteindir (CTMP) (Osaki et al. 2004). Ayrıca tübüler skleroz kompleksi (TSC) 1 (hamartin) ve TSC2 (tuberin) moleküllerinin Akt tarafından fosforillenmesi sonucu mTOR üzerine olan baskılayıcı etkisinin ortadan kalkması sonucunda mTOR'un upregüle edilmesi ile TSC1 ve TSC2 molekülleri aracılığı ile düşük ATP konsantrasyonlarında mTOR'un inaktivasyonunu sağlayan LKB1 literatürde mTOR'un negatif düzenleyicisi olarak göze çarpmaktadır (Shaw et al. 2004; Porta et al. 2014).

PI3K/Akt/mTOR yolağı üzerinde iş gören hücre yüzeyi reseptörlerinin aşırı üretilmesi veya sürekli olarak sinyal akışına sebep olacak şekilde aktif olması, PTEN gen bölgesinde heterozigotluğun kaybı veya anormal PTEN ürünü oluşumu, PI3K'ın alt ünitelerinden olan p110 α 'nın amplifikasyonu ve p85a'da mutasyon oluşumu, Akt izoformlarının aşırı ekspresyonu, S6K'nın amplifikasyonu çeşitli kanserlerin oluşumuna sebep olmaktadır (Bellacosa et al. 1995; Wang et al. 1997; Teng et al. 1997; Chang et al. 1999; Shayesteh et al. 1999; Bärlund et al. 2000a, 2000b; Saito et al. 2000; Philp et al. 2001; Ringel et al. 2001; Sun et al. 2001)

1.1.4 Prostat kanseri

Prostat bezi, pelvik diyafram ve periton boşluğu arasında bulunan subperitoneal bölgede yer alarak idrar yolunu mesanenin hemen altından saran yapıdır ve erkeklerde bulunan en büyük bezdir (Abate-Shen and Shen 2000; Lee et al. 2011). Prostat bezinin ana görevi, kan plazmasında bulunan yaklaşık 0.2 mM sitrat ile zıt olarak 40-150 mM arasında değişen sitrat konsantrasyonuna sahip prostat sıvısının üretim ve sekresyonudur (Costello and Franklin 2000, 2005, 2006) (Şekil 1.7).



Şekil 1.7. İnsan prostat kanalında bulunan hücrelerin şematik gösterimi (Abate-Shen ve Shen 2000’den değiştirilerek alınmıştır).

Prostat kanseri, Amerika’da yaşayan erkeklerde görülen en yaygın yedinci kanser olmakla beraber kanser ile ilişkili ölümlerde akciğer kanserinden sonra ikinci sırayı alır (Greenlee et al. 2000; Debes and Tindall 2004; Siegel et al. 2020). Türkiye’de ise toplam kanser vakalarının %8,2’sini ve kansere bağlı ölümlerin %4,4’ünü oluşturmaktadır (“WHO | Cancer country profiles 2020,” n.d.). Prostat kanseri için belirlenen ölüm oranları hormon bağımsız tümörlerin gelişimi ve kanserli hücrelerin kemiğe ve beyne metastaz yapması ile ilişkilidir (Klein et al. 1997). Metastaz yapma kapasitesi göz önüne alınarak prostat kanserleri genel olarak, androjen-bağımlı ve androjen-bağımsız prostat kanseri olmak üzere ikiye ayrılır (Feldman and Feldman 2001; Debes and Tindall 2004; Heinlein and Chang 2004).

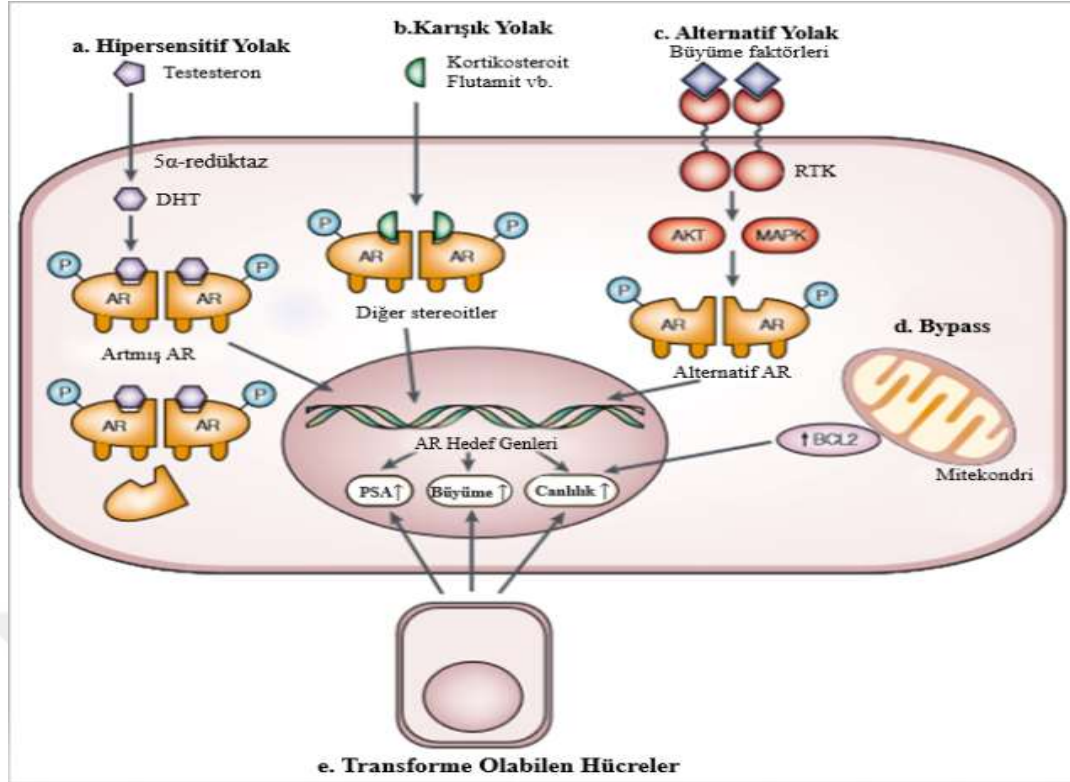
1.1.4.1 Androjen-bağımlı prostat kanseri

Prostat kanseri vakalarının %95’i androjen bağımlı olarak ortaya çıkar ve androjen hormonunun varlığında prostat bezi hücrelerinin kontrolsüz bölünmesi ile karakterize edilir (Debes and Tindall 2004). 19 karbon atomuna sahip androjenler, kolesterolden üretilen pregnenolonun dönüştürülmesi ile genellikle gonadlarda ve adrenal bezlerde olmak üzere vücudun çeşitli bölgelerinde üretilen steroid sınıfı bir hormondur (Wood 2011). Androjenler (testosteron, dihidrotestosteron, dehidroepiandrosteron ve dehidroepiandrosteron sülfat), proliferasyonu uyarıp apoptozisi baskılayarak birçok prostat kanserinin gelişim sürecinde kritik rol oynar (Feldman and Feldman 2001; Debes

and Tindall 2004; Wood 2011). Androjenler bu etkilerini steroid hormon reseptörü ailesinden olan androjen reseptörüne bağlanarak gösterirler (Heinlein and Chang 2004). Dolaşımdaki ana androjen olan testesteron testis tarafından salgılanarak üretilmesinin yanısıra, adrenal steroidlerin periferik dönüşümü ile de oluşur (Griffin and Wilson 1998). Testesteron, kanda albümin ve eşey hormonu bağlayıcı globüline bağlanarak, serum da ise serbestçe çözünen küçük bir fraksiyon halinde dolaşır (Feldman and Feldman 2001). Serbest testosteron prostat hücrelerine girdiğinde, % 90'ı 5 α -redüktaz enzimi tarafından androjen reseptörü ile ilişki kurabilen dihidrotestosterona dönüştürülür (Feldman and Feldman 2001). Dihidrotestosteron ile bağ kurmuş olan androjen reseptörü nükleusa göç eder, dimerize olarak androjen-tepki elementlerine bağlanır ve böylece hücre büyümesi ve bölünmesinde rol oynayan genler aktive olur (Debes and Tindall 2004). Prostatın ve yakınında bulunan lenf düğümlerinin cerrahi müdahale ile alınması (prostatektomi) androjen bağımlı prostat kanserinde ilk başvuru yollarından biridir ("Prostate Cancer Treatment (PDQ®)–Patient Version" 2019).

1.1.4.2 Androjen bağımsız prostat kanseri

Prostat kanseri üzerine yapılan araştırmalar prostatın alınmasına rağmen kanserin tekrar nüksettiğini göstermiştir. Testesteron üretiminin ana kaynağı olan prostatın alınmasından sonra ortaya çıkma yetisine sahip kanserin bu evresine androjen bağımsız prostat kanseri denilmektedir (Feldman and Feldman 2001). Androjen bağımsız prostat kanserinin oluşumunda beş farklı yolak öngörülmektedir: (I) Androjen reseptörü amplifiye edilebilir ve bu nedenle düşük dihidrotestosteron seviyeleri ile aktive edilebilir; (II) Mutasyona uğramış bir androjen reseptörü çeşitli ligandlar tarafından aktive edilebilir; (III) Deregüle edilmemiş büyüme faktörleri ve sitokinler, androjen reseptörü koaktivatörlerinin yardımıyla androjen reseptörünü aktive edebilirler; (IV) Androjen reseptörünü bypass eden yollarda, PTEN kaybı, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3-K) -Akt yolunun inhibisyonunu tersine çevirir ve aktive Akt'in Bad'i fosforile etmesine izin verir. Bu aktivasyon, sonuçta hücre sağ kalımına yol açan Bcl-2'nin salınmasıyla sonuçlanır. Ek olarak, androjenden bağımsız hücreler Bcl-2'yi aşırı ifade edebilir; (V) Prostat kanser hücreleri, nöroendokrin benzeri bir davranış geliştirebilir. Nöroendokrin hücreler, komşu hücrelerin büyümesini indükleyen nöropeptidleri salgılar ve böylece prostat kanseri, terapötik müdahalelerden kurtulabilir (Feldman and Feldman 2001) (Şekil 1.8).

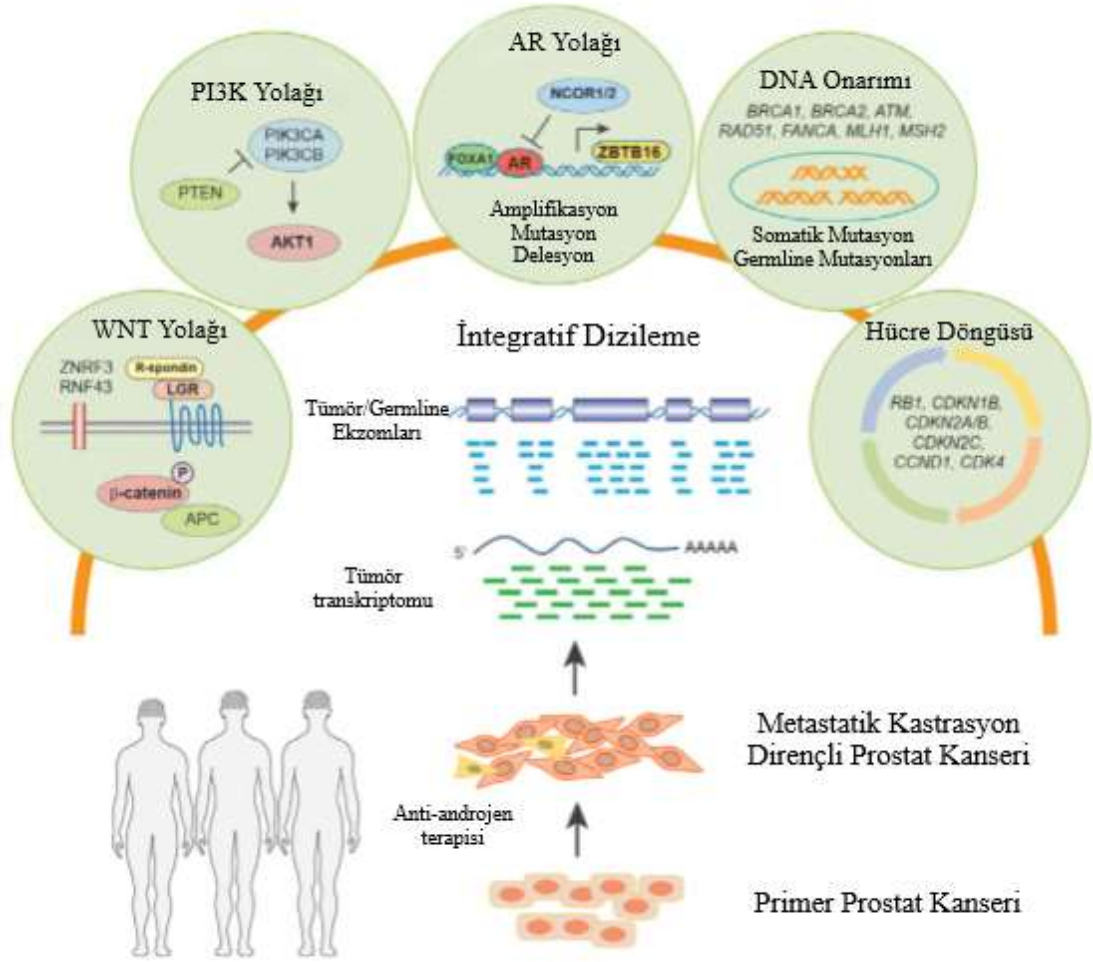


Şekil 1.8. Androjen bağımsız prostat kanseri için önerilen yolların şematik gösterimi (Feldman and Feldman 2001'den değiştirilerek alınmıştır).

1.1.4.3 Prostat kanserinde görülen mutasyonlar

Primer prostat kanserinde tekrarlayan somatik mutasyonlar, kopya sayısı değişiklikleri ve onkojenik yapısal DNA yeniden düzenlemeleri tanımlamıştır ve bunlar arasında SPOP, FOXA1 ve TP53'teki nokta mutasyonları; MYC, RB1, PTEN ve CHD1'i içeren bazı genlerin kopya sayısında değişiklik ve transkripsiyon faktörü ailelerinden biri olan E26 transformasyona özgü (ETS) füzyonları yer alır (Barbieri et al. 2012; Baca et al. 2013; Robinson et al. 2015; Liu et al. 2017).

Androjen bağımsız prostat kanserinde 8q kopya sayısında artış gözlenirken 8p, 13q, 16q ve 18q kopya sayılarında azalış gözlenmiştir. Ayrıca androjen reseptörü genlerinde artış, CHD1, PTEN, RB1, TP53'de de delesyon gözlenmiştir (Robinson et al. 2015; Belic et al. 2018) (Şekil 1.9).



Şekil 1.9. İlerlemiş prostat kanserinde mutasyon geçirdiği düşünülen muhtemel genler ve görev aldığı yollar (Robinson et al. 2015'ten değiştirilerek alınmıştır).

1.1.4.4 Prostat kanserinin tanı ve tedavisi

Prostat kanseri tedavisinde kanserin evresi ve patolojik durumuna göre farklı yaklaşımlar mevcuttur. Bu yaklaşımlar Çizelge 1.1' de listelenmiştir.

1. GİRİŞ

Çizelge 1.1. Prostat kanseri için sırasıyla uygulanan standart tedaviler (National Cancer Institute, Güncelleme: 1 Kasım 2018).

Bekleme veya aktif gözetim
Cerrahi
Radyasyon tedavisi ve radyofarmasötik tedavi
Hormon tedavisi
Kemoterapi
Biyolojik terapi
Bisfosfonat tedavisi

Kemoterapi, kanser hücrelerinin büyümesini ve istilasını inhibe etmek veya kontrol etmek için kullanılan tedavi yaklaşımlarından biridir ve kemoterapötik ilaçların kullanımını içerir (Malmstrom Per-Uno et al. 1996; Steinberg et al. 2000). Kemoterapötik ajanlar, kanser tedavisinde kullanılan genotoksik ve sitotoksik etkilere sahip bir ilaç grubudur (Demaria et al. 2017). Bu ajanlar, genel olarak proliferasyon için hücre döngüsüne bağlı farklı mekanizmalar kullanan anormal hücreleri hedef alır (Dy and Adjei 2008).

1.2 Gempitabin

Gempitabin (2'-difloro-2'-deoksisitidin, dFdC), deoksisitidin (pirimidin) 2' karbonundaki hidrojen atomlarının iki florin atomu ile değiştirildiği bir nükleosid analogudur (Bergman et al. 2002; Rizzuto et al. 2017). Gempitabin ilk olarak 1980-1990 yılları arasında Avrupa ülkelerinde ve ABD'de klinik sahalarda çalışılmıştır (Rizzuto et al. 2017). Pankreas, küçük-olmayan hücreli akciğer, baş ve boyun, mesane, göğüs ve yumurtalık kanserlerinin tedavisinde kullanılan bir kemoterapötiktir (Pauwels et al. 2003).

Gempitabin hücreye alınca deoksisitidin kinaz yardımı ile monofosfat (dFdCMP) formuna çevrilir (Pauwels et al. 2003). Müteakip fosforilasyonlar sonucunda DNA ve RNA'yı hedefleyen ve muhtemelen sitotoksik etkiden sorumlu olan aktif metabolitler gempitabin difosfat (dFdCDP) ve trifosfat (dFdCTP) oluşmasını sağlar

(Pauwels et al. 2003). dFdCTP uzayan DNA zincirine katılır ve bu aşamadan sonra sadece bir deoksिनुकлеотид zincire dahil edilir (Plunkett et al. 1995). Son нуклеотидin zincire eklenmesi ile gempitabin maskelenmiş olur. Bu duruma pol maskeli işaretleme denir ve gempitabinin DNA onarım enzimleri tarafından uzaklaştırılmasını engeller ve DNA polimerazların ilerlemesini durdurur (Huang et al. 1991). Ayrıca gempitabinin ek bir etki mekanizması ile deoksिनुकлеотид metabolizmasına bağlı enzimlerin inhibisyonu ile kendini güçlendirir (de Sousa Cavalcante and Monteiro 2014). Bu enzimlerden biri dCTD'dir ve dFdCTP tarafından doğrudan, dFdCDP tarafından ise dolaylı olarak inhibe edilir (Heinemann et al. 1992). Dolaylı inhibisyon ribonukleotitlerin deoksiribonukleotitlere dönüşümünü katalizleyen ribonukleotit redüktazın aktif bölgesine dFdCDP'in kovalent bağlanmasıyla ortamdaki dNTP miktarının azalması ve dolayısıyla dCTD aktivitesini azalmasıyla gerçekleşir (Heinemann et al. 1992). dNTP havuzunun düşürülmesi dFdC fosforilasyonunu teşvik eder, böylece dFdCTP seviyesini ve dCTP oranını artırır, böylece dFdCTP'nin DNA'ya dahil edilmesi daha olası hale gelir (de Sousa Cavalcante and Monteiro 2014). Kaspaz sinyalleme yoluyla apoptozun uyarılması da bir başka önemli etki mekanizmasıdır (Ferreira et al. 2000; Chandler et al. 2004; Habiro et al. 2004). Buna ek olarak gempitabin, normal hücrelerden ziyade tümör hücrelerinde hücresel strese yanıt olarak apoptozu tetiklemek için p38, MAPK'ı aktive eder (Kummer et al. 1997; Habiro et al. 2004).

1.3 Anestezi

Geleneksel olarak anestezi, bilinç kaybı, zararlı bir uyarana cevap olarak hareketsizlik ve amnezi (bilinç kaybı) olarak tanımlanmıştır (Hameroff 1998). 1845 yılında, anestetik amaçla ilk olarak azot oksit denenmesine rağmen, William Morton adlı bir diş hekiminin 1846'da eteri kullanarak bir hastayı uyutması ilk başarılı deneme olarak tarihe geçmiştir (Urman and Desai 2012). Daha sonra 1847'de İskoçyalı Simpson tarafından kloroform anestezide denenmiş ve hoş kokulu olmasından dolayı kullanımı hızla yaygınlaşmıştır (Dunn 2002). Fakat kloroform, hepatotoksik ve şiddetli kardiyovasküler depresyona neden olduğu için günümüzde pek kullanılmamaktadır. Daha sonra yapılan çalışmalar ile 1956 yılında halotan geliştirilmiştir ve günümüzde en yaygın olarak kullanılan anestetik ajandır (Raventós 1956). Günümüzde cerrahi müdahalelerde hastaların uyutulması veya bölgesel olarak hissisleştirilmesi gibi

amaçlarla kullanılan anestezipler preoperatif, intraoperatif ve postoperatif ağrı yönetiminde de kullanılan ajanlar olarak literatürde yer edinmiştir.

1.3.1 Anestezipler ve kanser

Birçok kanserde primer tümörün cerrahi rezeksiyonu tedavinin temelini oluşturmaya rağmen anestezi madde uygulamasının hasta bireylerde T lenfosit apoptozisine neden olarak bağışıklığı bastırmasından dolayı kanserin tekrarını ve metastazını arttırdığına dair kanıtlar literatürde mevcuttur (Neeman and Ben-Eliyahu 2013; Yang et al. 2017). Fakat yapılan bir dizi retrospektif çalışma, meme, prostat, yumurtalık, melanom ve lokalize kolon kanserinde kullanılan lokal anesteziplerin, cerrahi müdahale sonrası kanser nüksünü azalttığını göstermiştir (Schlagenhauff et al. 2000; Exadaktylos et al. 2006; Biki et al. 2008; Christopherson et al. 2008; de Oliveira et al. 2011; Lin et al. 2011). Yapılan diğer çalışmalar ise anestezi maddelerin kanser üzerine olan etkilerinin hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğini göz önüne sermektedir. Bu mekanizmalar voltaj kapılı sodyum kanallarının inhibisyonu, mitokondriyal inhibisyon, kalsiyum akışının azaltılması, kanser hücrelerinde aşırı metillenmiş tümör baskılayıcı genlerin demetilasyonu gibi işleyişleri içerir (Grandhi and Perona 2019).

Sağlıklı bireylerde sinir hücrelerinde ve uyarılabilir dokularda sentezi olan voltaj kapılı sodyum kanalı (VGSC) proteinleri tümörlü hücrelerde de üretilerek kanserin invazyon ve metastazına sebep olur. Lokal anestezipler ise bu kanalları bloke ederek kanserin yayılımını önler (Koltai 2015). Hücre için gerekli olan enerjinin üretim merkezi olan mitokondrilerin kanserli dokunun büyümesinde, sağ kalımında ve göçünde önemli bir etkisi vardır (Gong et al. 2018). Bazı anesteziplerin mitokondriyal solunum kompleksleri I ve II'yi baskılayarak mitokondriyal solunumu azaltıp kanser hücrelerinin koloni oluşturma yeteneğini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Gong et al. 2018). Hücre hareketinde önem arz eden kasılma kuvvetleri hücre içi kalsiyum tarafından sağlanır (Lee et al. 1999). Geçici reseptör potansiyel alt aile V üye 6 (TRVP6) kanalı yoluyla apoptozisi ve hücre göçünü kontrol eden kalsiyum sinyalinin bazı anestezipler tarafından bastırılması hücre bölünmesinde, göçünde ve canlılığında azalmaya sebep olduğu düşünülmektedir (Jiang et al. 2016). Ayrıca, insan kanserlerinin ortak bir özelliği olan p16^{INK4a}, hMLH1, BRCA1 gibi tümör baskılayıcı genlerin promotör bölgelerinden aşırı metillenmesi hücre ölümü güçleştiren mekanizmalardan biridir (Esteller 2002).

1. GİRİŞ

Yapılan araştırmalar, bazı anesteziklerin bu metilasyonu inhibe ettiği literatürdeki mevcut bilgilerdendir (Villar-Garea et al. 2003). Bu verilere ek olarak son yıllarda yapılan çalışmalarda lokal anestezik uygulanmasının kanser hücrelerinin büyümesi, istilas ve göçünü önlediği; MAPK'ı, kaspazları, Bcl-2'yi ve mitokondriyal apoptoz yolunu aktive ettiği rapor edilmiştir (Piegeler et al. 2012; Wang et al. 2016). Son 15 yılda yapılan araştırmalarda kullanılan anestezikler ve etki ettikleri kanser türleri izelge 1.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 1.2. Kanser araştırmalarında çalışılmış bazı anestezikler ve çalışıldığı kanser türleri.

Anestezik	Kanser	Kaynak
Halotan	Kolon kanseri	(Kvolik et al. 2005)
	Akciğer kanseri	
	Larenks kanseri	
	Pankreas kanseri	
Sevafluran	Glioblastoma	(Hurmath et al. 2016)
Propofol	Kolorektal kanser	(Deng et al. 2016)
	Pankreas kanseri	(Liu et al. 2016)
	Glioblastoma	(Xu et al. 2016)
	Osteosarkom	(Xu et al. 2016)
Tiopental	Glioblastoma	(Hurmath et al. 2016)
Lidokain	Akciğer adenokarsinomu	(Piegeler et al. 2012)
	Kucuk hucreli olmayan akciğer kanseri	(Wang et al. 2015)
	Hepatosellüler kanser	(Xing et al. 2017)
Bupivakain	Yumurtalık kanseri	(Xuan et al. 2016)
	Prostat kanseri	
Ropivakain	Akciğer adenokarsinomu	(Piegeler et al. 2012)
Desfluran	Yumurtalık kanseri	(Elias et al. 2015)

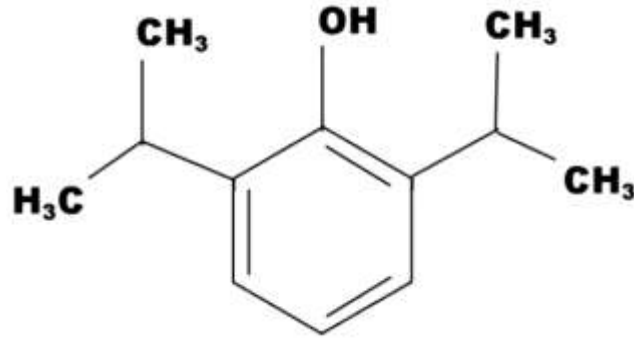
1.3.2 Propofol

Genelde “anestezi sütü” olarak adlandırılan propofol (2,6-diizopropilfenol), ilk olarak Birleşik Krallık'ta fenol türevlerinin hayvan modellerinde sakinleştirici etkisi üzerine araştırmalar yapıldıktan sonra Imperial Chemical Industries tarafından geliştirilmiştir ve modern tıpta en popüler intravenöz anestezik ajanlardan biri olarak bilinir (Chidambaran et al. 2015). Propofol (2,6-diizopropilfenol) oda sıcaklığında yağ ve sulu çözelti içinde çözünmeyen bir alkilfenoldür (Desousa 2016) (Şekil 1.10).

% 1 (ağırlık / hacim) propofol:

- % 10 soya yağı,
- % 2.25 gliserol,
- % 1.2 saflaştırılmış yumurta fosfatit
- % 0.005 disodyum edetat içerir (Desousa 2016).

Bu formülasyonda, propofolün çoğunu oluşturan yağ damlacıkları, beyaz ışığı önemli ölçüde yansıtacak ve kıracak kadar büyüktür ve bu nedenle süt gibi görünür (Desousa 2016). pH'ı 7'dir ve sudaki pKa'sı 11'dir (Desousa 2016). Propofol, hipotansiyon ve solunum depresyonu gibi belirgin bir şekilde görülen yan etkilere sahip olmasının yanı sıra hızlı etki, kısa süreli etki ve postoperatif bulantı gibi daha az yan etkilere sahip olması sebebiyle diğer anestezik ajanlara göre birçok farmakolojik avantaja sahiptir (Mays 2011; Chidambaran et al. 2015). Lokal anestezi amacıyla ameliyat esnasında hastaları yatıştırmak ve yoğun bakımda hastaların sedasyonunu sağlamak için kullanılır (Langley and Heel 1988). Ayrıca ileri kanser hastalarında nöropsikiyatrik semptomların kontrolünü sağlaması ve palyatif tedavide kullanılabilmesi için literatürde bazı araştırmalar mevcuttur (Mercadante et al. 1995; Lundström et al. 2005). Ayrıca prostat biyopsisi alımı sırasında ağrı yönetimini sağlamak için de propofol kullanılır (Awsare et al. 2007; Nazir 2014). Sahip olduğu anestezik avantajlara ek olarak propofol antitümör etki de gösterir. Bir dizi çalışma propofolün yardımcı T hücrelerini aktive ederek kansere karşı bağışıklık sistemini olumlu yönde etkilediğini, kanser hücrelerinin yayılımını kolaylaştıran matriksmetalloproteaz seviyesini azalttığını ve programlı hücre ölümünü tetiklediğini göstermiştir (Tsuchiya et al. 2002; Wada et al. 2007; Miao et al. 2010).



Şekil 1.10. Propofolün moleküler yapısı (Chidambaran et al. 2015).

Literatürde kayıtlı bulunan ve daha önce yürütülmüş olan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarda anestezik maddelerin insan kanserleri üzerinde olumlu etkilerinin olduğu moleküler düzeyde ortaya konulmuştur. Ancak bu çalışmalar her kanser türünde yürütülmemiş olup prostat kanseri ile yapılan çalışmalar alanında boşluk bulunmaktadır. Tüm bu bilgiler ışığında çalışmadaki amacımız *in vitro* koşullarda prostat kanseri hücreleri olan DU145 ve PC3 üzerinde anestezik bir ajan olan propofolün kemoterapik bir ajan olan gempitabin ile sinerjik etkisini karşılaştırmalı bir şekilde araştırmaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Mammoto et al. (2002), HeLa, HT1080, HOS ve RPMI-7951 insan kanser hücre hatlarını kullanarak propofolün bu hücrelerin metastaz yeteneğini inhibe ettiğini göstererek kanserli bölgenin cerrahi müdahale ile alınmasında ideal bir anestezi olabileceğini rapor etmişlerdir.

Werdehausen et al. (2012), birçok lokal anesteziği (bupivakain ve enantiomeri, ropivakain ve enantiomeri, lidokain, mepivakain, prilokain, prokain, artikain ve tetrakain) kullanarak insan Jurkat T lenfoma hücreleri üzerinde toksite değerlendirmesi yapmıştır. Sonuç olarak toksisite potansiyellerine göre anestezi ajanları tetrakain, bupivakain, ropivakain, prilokain, prokain, lidokain, artikain ve mepivakain şeklinde sıralandırmışlardır. Bu anesteziklerin düşük konsantrasyonda apoptozise, yüksek konsantrasyonda ise nekroza sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Kobayashi et al. (2012), insan lösemi hücre hattı HL-60, oral skuamöz hücreli karsinom hücre hatları (HSC-2, HSC-3, HSC-4, NA, Ca9-22), insan glioblastoma hücre hatları (T98G, U87MG), normal insan oral hücreleri, gingival fibroblast (HGF), pulpa hücreleri (HPC) ve periodontal ligament fibroblast (HPLF) hücreleri üzerine lidokain, dibucain, prokain, tetrakain, etil- o- aminobenzoat lokal anesteziklerini uygulamışlardır. Sonuç olarak tüm anesteziklerin normal hücrelere nispeten kanserli hücrelerde daha yüksek toksisite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Liang et al. (2012), insan akciğer adenokarsinomu A549 hücre hattını kullanarak sevofluoranın farmokokinetiğini araştırmışlardır. Sonuç olarak doza ve zaman bağlı bir şekilde sevofluoranın A549 hücrelerinin canlılığını, metastaz ile ilişkili proteinler olan MMP-2, MMP-9, faskin ve ezrinin ekspresyon seviyelerini azalttığını bulmuşlardır.

Lirk et al. (2014), meme kanseri hücre hatları BT-20 [östrojen reseptörü (ER) - negatif] ve MCF-7 (ER-pozitif) kullanarak lidokain, bupivakain ve ropivakainin epigenetik mekanizmalara olan etkilerini araştırmıştır. Lidokain ve ropivakain ile inkübe edilen tümör hücrelerde global DNA hipermetilasyonunda azalma gözlenirken bupivakain ile inkübe edilen hücrelerde hipermetilasyon ile ilgili bir değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca kemoterapi ajanı 5-aza-2'-deoksisitidin (DAC) ile kombine bir

şekilde verilen anesteziplerden sadece lidokain ile muamele edilen tümör hücrelerinde daha güçlü bir demetilasyon gözlenmiştir.

Chang et al. (2014), lokal anestezi olan lidokain ve bupivakaini ayrı ayrı ve kombine bir şekilde insan meme kanseri (MCF-7) ve meme epitel (MCF-10A) hücre hatlarına uygulamışlardır. Bu anesteziplerin hücre canlılığını azalttığı, kesilmiş kaspaz 7, 8 ve 9 proteinlerinin artışı sonucunda hücrelerin apoptozise yöneldiği gösterilmiştir. Anesteziplerin bu etkilerinin kanser hücresi olan MCF-7’de daha belirgin olduğu da rapor edilmiştir.

Chang et al. (2014), lidokain ve bupivakainin etkilerini tiroit kanseri hücreleri (8505C ve K1) üzerinde araştırmıştır. Her iki hücre hattında da artan doza ve zamana bağlı olarak canlılığın azaldığı gözlenmiştir. Anestezipler ile muamele sonrası hücre büyümesinin baskılandığı, apoptozun ve nekrozun indüklendiği, koloni oluşumunun inhibe olduğu rapor edilmiştir. Lidokain ve bupivakain ile inkübasyon, tiroit kanseri hücrelerinde kaspaz 3 ve 7’nin aktivasyonu, PARP bölünmesi ve daha yüksek bir Bax / Bcl-2 oranının indüklenmesi ile birlikte mitokondriyal membran potansiyelinin bozulmasına ve sitokrom c’nin salınmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu anesteziplerin MAPK yollarının uyarılmış aktivasyonunu bastırdığı rapor edilmiştir.

Huang et al. (2014), malignite potansiyeli, hipoksi-indüklenebilir faktör-1 α ’nın (HIF-1 α) ekspresyon düzeyinin ve bunun alt akış efektörlerinin, hücre proliferasyonunun ve migrasyonunun yanı sıra kemoterapiye direnç gelişiminin değerlendirdikleri çalışmalarında izofluran ve propofolun etkilerine insan prostat kanseri hücre hattında (PC3) bakmışlardır. İzofluran, HIF1- α ekspresyonunu artırarak maligniteye sebep olurken propofol bu etkiyi ortadan kaldırmıştır.

Song et al. (2014), akciğer kanseri hücre hattı A549, insan kolon kanseri hücre hattı LoVo, ve insan meme kanseri hücre hattı SK-BR-3’e propofol uygulamışlardır. Apoptoz biyobelirteci olan kaspaz-3 ekspresyon seviyesinin A549 hücrelerinde 100 μ M propofol ile 24 saatlik stimülasyondan sonra doza bağlı bir şekilde anlamlı şekilde arttığını ve LoVo hücrelerinde biraz artarken SK-BR-3 hücrelerinde kaspaz-3 ekspresyonunda bir değişiklik olmadığını göstermişlerdir. Ayrıca 24 μ M propofol ile

A549 hücre hattına muamele sonrasında proapoptotik bir protein olan BAX seviyesinde azalma gözlenmiştir

Malsy et al. (2015), klinik pratikte kullanılan en yaygın N-metil-Daspartat (NMDA) reseptör antagonistlerinden biri olan ve anestezide kullanılan Ketamin'i pankreas kanseri hücre hatlarına (PaTu8988t ve Panc-1) uygulayarak hücre çoğalmasını ve ölümünü inhibe ettiğini göstermişlerdir.

Wang et al. (2016), lidokain ve ropivakaini küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hattı A549'a ve H520'ye uygulamışlardır. Sonuç olarak bu anesteziklerin hücre canlılığını azalttığı, ROS'a sebep olduğu, DNA fragmentasyonuna yol açtığı, hücre invazyonu ve migrasyonunu baskıladığı, hücre döngüsünde G0/G1 fazında tutuklanmayı artırdığı ispatlanmıştır.

Xuan et al. (2016), yumurtalık kanseri hücre hattı SVOK3 ve prostat kanseri hücre hattı PC3'e lokal anestezik olan bupivakaini uygulamışlardır. Sonuç olarak tek başına ve taxol ile kombine bir şekilde uygulanan bupivakainin hücre proliferasyonunu azalttığı gözlemlendi. Bupivakain ile muameleden sonra apoptozun biyobelirteci olan kesilmiş kaspaz 3, 8 ve 9'un hücre hatlarında artış gösterdiği rapor edilmiştir. Bu anestezik her iki hücre hattında da hücre göçünü anlamlı bir şekilde inhibe etmiştir. Ayrıca SVOK3 hücre hattında ROS seviyesinde artış gözlenirken PC3 hücre hattında azalma olduğu belirtilmiştir.

Chen et al. (2017), insan pankreas kanseri hücre hatları Miapaca-2 ve Panc-1'e *in vitro* şartlarda; kemirgen pankreas kanseri hücresi Panc02' ye *in vivo* şartlarda intravenöz bir anestezik olan propofol ile muamele etmişlerdir. Propofol'ün, hücre göçünü, VEGF ve HIF-1α'nın ekspresyonunu, hücre dışı regüle edilmiş protein kinazlarının (ERK), AKT, Ca²⁺ / kalmodulin bağımlı protein kinazlarının II (CaMK II) konsantrasyon bağımlı bir şekilde fosforilasyonunu inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Ayrıca pankreas kanseri hücrelerinin *in vitro* ve *in vivo* olarak propofol'ün muhtemelen NMDA reseptörü VEGF ekspresyonunu inhibe ederek göç yeteneğini baskıladığını göstermişlerdir.

Li et al. (2018), lokal anestezikleri (lidokain, mepivakain, bupivakain, levobupivacaine, ropivakain), meme kanseri MDA-MB-231, MCF-7 hücre hatları ile sağlıklı meme epiteli MCF-10A hücre hattı üzerinde test etmişlerdir. Kullanılan tüm anesteziklerin artan dozlarda kanserli hücre hatlarında sağlıklı hücre hattına göre daha ileri seviyede toksisiteye sebep olduğu, migrasyonu azalttığı, hücre döngüsünde G2 fazında tutuklanmaya sebep olduğu rapor edilmiştir.

Jose et al. (2018), insan prostat kanseri hücrelerine (DU145) lokal anestezide kullanılan Levobupivakain ile muamele ederek biyoenerjetik ve REDOX etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak Levobupivakain, kanser hücrelerinde glikoliz ve oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek hücre ATP üretimini azaltıp ROS oluşumunu indükleyerek biyoenerjetik krize sebep olmuştur.

Gong et al. (2018), MDA-MB-468 ve SkBr meme kanseri hücrelerini kullanarak Ropivakain'i test etmişlerdir. Ropivakain, her iki insan meme kanseri hücresinde de büyüme, hayatta kalma ve ankrajdan bağımsız koloni oluşumunu önemli ölçüde inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Ropivakain'in 5-FU ile sinerjik olarak etki ettiği gözlenmiştir. Ropivakainin, mitokondriyal solunum kompleksi I ve II aktivitelerini baskılayarak, enerji tükenmesine, oksidatif stres ve hasara yol açan mitokondriyal solunumu inhibe ettiği bulunmuştur. Mitokondriyal DNA'sı olmayan ve dolayısıyla mitokondriyal solunum eksikliği olan p0 hücrelerinde Ropivakain'in inhibe edici etkilerinin gözlenmemesi Ropivakain'in etki mekanizması için mitokondriyal solunumun gerekli olduğunu göstermiştir. Ayrıca Ropivakain, meme kanseri hücrelerinde Akt, mTOR, rS6 ve EBP1'in fosforilasyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir.

Castelli et al. (2019), meme kanseri hücre hattı MDA - MB - 231 ve malign melanom hücre hattı A375 üzerinde Ropivakain ve Levobupivakain'in etkilerini araştırmışlardır. Kullanılan anesteziklerin MDA - MB - 231 ve A375 hücrelerinde canlılığı azalttığı gözlenmiştir. Western blot analizleri anestezikler ile muamele sonrası hücre çoğalmasını azaltıcı etkiye sebep olacak aktif Akt (p - Akt) formunda ve GSK3β (Ser9) 'un aktif olmayan formunda azalma saptamışlardır. Ayrıca anestezikler ile muamele edilen her iki hücrede de RhoA ve aktif FAK formu gibi hücre göçüne katılan proteinlerin seviyelerinde anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Tez araştırmalarında kullanılan DU145 ve PC3 insan prostat kanseri hücre hatları ATCC® hücre kültürü koleksiyonundan temin edildi. Çalışmada kullanılan kitler ve diğer kimyasallar Çizelge 3.1’de, cihazlar ise Çizelge 3.2’de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan kit ve kimyasal listesi.

Kitler ve Kimyasal Maddeler	Alındığı Firma
RPMI 1640	Gibco® (USA)
FBS (Fetal Bovine Serum)	Gibco® (USA)
L-Glutamine	Sigma-Aldrich® (Germany)
PBS (Phosphate Buffered Salin)	Sigma-Aldrich® (Germany)
Penisilin-Streptomisin	Gibco® (USA)
Trypsin/EDTA	Gibco® (USA)
Trypan Blue	Sigma-Aldrich® (Germany)
DMSO (Dimetil sülfoksit)	Sigma-Aldrich® (Germany)
Propofol	Sigma-Aldrich® (Germany)
Gemcitabin	MedChem Express®
Cell Viability Detection Kit-8	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)
LDH Cytotoxicity Assay Kit	Thermo Scientific® (USA)
Total Oxidant Status Assay Kit	Rel Assay Diagnostics® (Turkey)
Total Antioxidant Status Assay Kit	Rel Assay Diagnostics® (Turkey)
PMSF	Roche®
Proteaz İnhibitör Kokteyl	Thermo Scientific®
RIPA Lysing Buffer	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)
Amonyum Persülfat	BioShop
Glycine	IsoLab
İzopropanol	Sigma-Aldrich® (Germany)
Ethanol	Merck
Nitroselülos Membran	Sigma-Aldrich® (Germany)

Çizelge 3.1(devam)

Whatman Kâğıdı	Sigma-Aldrich® (Germany)
Laemli Sample Buffer 2x	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)
Süt Tozu	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)
Pierce ECL Western Blot Substrat	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)
Ponceau	EcoTech Biotechnology ® (Turkey)
Trisma Base	Sigma-Aldrich® (Germany)
Akrilamit	BioShop
Bis-akrilamit	Sigma-Aldrich® (Germany)
N,N,N',N'-Tetramethyl-ethylendiamine (TEMED)	Sigma-Aldrich® (Germany)
GangNam-STAIN™ Prestained Protein Ladder	iNtRON Biotechnology® (Korea)
β-aktin Antikor	Santa Cruz Biotechnology®
Akt Primer Antikor	Santa Cruz Biotechnology®
p-Akt Primer Antikor	Santa Cruz Biotechnology®
Sekonder Antikor	Santa Cruz Biotechnology®

Çizelge 3.2. Araştırmada kullanılan cihaz listesi.

Cihazın Adı	Modeli
Spektrofotometre	Biotek EPOCH
Biyogüvenlik Kabini	ESCO NordicSafe™
CO ₂ 'li İnkübatör	ESCO Celculture
Santrifüj	Hettich Zentrifugen Universal 320R
İnvert Mikroskop	Leica DFC450C Model: CH-9435
Vorteks	Wisd Wisemix VM-10
Ultra Saf Su Cihazı	Millipore, Q-3W
Masaüstü pH Metre	Adwa, AD1000
Dijital Mikrobiyolojik Emniyet Kabini	ESCO, AC2-4E8M
Soğutmalı Santrifüj	Hettich, Universal 320R
Isıtıcı-soğutucu Kuru Blok	Bioer, ch 202
Derin dondurucu – 86, büyük boy	Esco, uus-439b

Çizelge 3.2 (devam)

Derin Dondurucu (-20 °C)	Templow
UV-Visible Spektrofotometre	Mecasys, Optizen uv/vis
Vorteks	DAIHAN
Otoklav	JSR, JSAC-60
Analitik Terazî (0,0001)	Shimadzu ATX 224
Görüntüleme Cihazı	Bio-Rad ChemiDoc
Trans-Blot® Turbo™ Transfer System	Bio-Rad, Hercules, CA, USA
Buzdolabı (4°C)	Edesa
Akım Sitometre	Partec
Mikropipet	Axypet
Mini Santrifüj	WiseSpin

3.2 Yöntem

3.2.1 Hücre kültürü

3.2.1.1 DU145 ve PC3 hücre hatlarının kültüre edilerek çoğaltılması

Çalışmada insan prostat kanseri beyin metastazı DU145 hücre hattı ve insan prostat kanseri kemik metastazı PC3 hücre hattı kullanıldı. Her iki hücre hattı da androjen bağımsız prostat kanseri hücreleridir ve kültür ortamlarında aynı besiyeri içerikleri kullanılmıştır. Hücreler steril flasklarda (25 cm²'lik) % 10 FBS, % 1 penisilin/streptomisin ve % 1 L-glutamin içeren RPMI1640 içerisinde (5 ml), 37 °C'de % 5 CO₂ içeren ortamda hücrelerin yaklaşık çoğalma yüzdeleri dikkate alınarak 2-3 günde bir pasajlandı.

3.2.1.2 Hücre sayımı

T25 flasklarda %70-80 konfluensiye ulaşmış hücreler tripsin yardımıyla kaldırıldı ve hücre yoğunluğuna göre 1-2 ml taze besiyeri içerisinde çözülüp tek tek hücrelerden oluşan homojen bir karışım elde edildi. Hücre sayımı için hemositometre lamı kullanıldı. Sayım öncesinde hemositometre lamı ve lamel %70 alkolle temizlendi ve lamel

hemositometrenin üzerine yerleştirildi. Hücre sayımı için 15 µl Trypan Blue ile 15 µl hücre solüsyonu karıştırılıp hemositometre lamı üzerine yerleştirilen lamel arasında oluşan boşluğa 15 µl yüklendi. İnvert mikroskop kullanılarak sayım yapıldı. 1 ml besiyerinde bulunan canlı hücre sayısı 3.1 numaralı formüle göre hesaplandı;

$$\text{Ortalama Hücre Sayısı} \times \text{Seyreltme Faktörü} \times 10.000 \quad (3.1)$$

3.2.1.3 Hücrelerin 96 kuyucuklu platelere ekilmesi

Hücre sayımı yapıldıktan sonra hücreler 96 kuyucuklu platelerin her bir kuyucuğunda 200 µl besi yeri ve 3000 hücre olacak şekilde ekildikten sonra kuyu tabanlarına tutunmaları için 37 °C’de %5 CO₂ içeren etüvde 24 saat inkübe edildi.

3.2.1.4 Gemsitabinin hazırlanışı

MedChem Express® firmasından satın alınan gemsitabin, üretici firmanın protokolüne göre hazırlandı. 6 mg tartılan gemsitabin, 1000 µl DMSO ile çözülerek 6 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltisi hazırlandı. Seri seyreltme yapılarak 3 mg/mL, 1,5 mg/mL, 1,5 mg/ml ve 0,75 mg/mL stok çözeltileri hazırlanarak -80 °C’de saklandı. Literatürden elde edilen bilgiler ışığında, gemsitabinin stok çözeltileri RPMI1640 full medium ile seyreltilerek 60 µg/mL, 30 µg/mL, 15 µg/mL, 7,5 µg/mL ve 3,75 µg/mL konsantrasyonları elde edildi (Zhang et al. 2017).

3.2.1.5 Propofolün hazırlanışı

Sigma Aldrich® firmasından 2,6-Diisopropylphenol ticari adı ile temin edilen propofolün 0.962 g / mL olan yoğunluğundan yola çıkılarak DMSO’da çözüldü. 10 mg/mL, 2,5 mg/mL, 1 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlarında stok çözeltiler hazırlandı. Daha önce yürütülen çalışmalar dikkate alınarak propofolün stok çözeltileri, RPMI1640 medium ile seyreltilerek 100 µg/mL ,75 µg/mL, 50 µg/mL, 25 µg/mL, 10 µg/mL, 5 µg/mL ve 1 µg/mL konsantrasyonlarına ulaşıldı (Chen et al. 2017).

3.2.2 Gemsitabin ve propofolün hücrelere uygulanması

DU145 ve PC3 hücre hatlarına uygulanan gemsitabin ve propofolün konsantrasyonları Çizelge 3.3'te gösterilmiştir. Çalışmanın ilk ayağında kullanılan konsantrasyonlara yapılan literatür taraması sonucunda karar verilmiştir. TAK, TOD ve Western blot deneyleri için seçilen konsantrasyonlar, CVDK-8 testi sonucunda ulaşılan IC₅₀ ve üzeri konsantrasyonlardır. DU145 hücreleri için ileri deneylerde kullanılmak üzere gemsitabinin 30 ve 60 µg/mL konsantrasyonları ve propofolün 25, 50, 75 ve 100 µg/mL konsantrasyonları seçildi. PC3 hücreleri ise ileri deneylerde gemsitabinin 15 ve 30 µg/mL konsantrasyonları ve propofolün 50, 75 ve 100 µg/mL konsantrasyonları ile muamele edildi.

Çizelge 3.3. Gemsitabin ve propofolün DU145 ve PC3 hücrelerine uygulanan konsantrasyonları.

	Gemsitabin (µg/mL)	Propofol (µg/mL)
DU145	3,75, 7,5, 15, 30, 60	1, 5, 10, 25, 50, 100
PC3	3,75, 7,5, 15, 30	1, 5, 10, 25, 50, 75, 100

3.2.3 Sitotoksosite analizleri

96 kuyucuklu platelere ekilen DU145 ve PC3 hücreleri 24 saat inkübatörde bekletilerek kuyu diplerine adezyon molekülleri ile adhere olması sağlandı. 24 saat sonunda kuyularda bulunan besiyeri çekildi. Yukarıda bahsedildiği şekilde çözeltileri hazırlanan gemsitabin ve propofolün tüm konsantrasyonları beşer tekrar hâlinde hücre hatlarına ayrı ayrı uygulandı. Gemsitabin ve propofol içermeyen besiyeri ile muamele edilen grup negatif kontrolü, %20 DMSO içeren besiyeri ile muamele edilen grup pozitif kontrolü oluşturdu. Optimum sürelerde inkübasyon sonunda test maddelerinin hücre canlılığı üzerine olan etkileri EcoTech Biotechnology firmasından temin edilen Cell Viability Detection Kit-8 (CVDK-8), kullanılarak ve üretici firma protokolü takip edilerek araştırıldı.

Bu yöntemde test bileşenleri ile muamele edilen ve canlı kalmayı başaran hücrelerin mitokondriyal dehidrogenaz enzimlerinin sergiledikleri aktiviteden yararlanılır (Bahuguna et al., 2017). Canlı hücrelerdeki dehidrogenaz enzimleri kitin içeriğinde mevcut olan suda çözünebilen tetrazolyum tuzunu formazan kristaline indirger

(Kabakov and Gabai, 2018). Bu reaksiyonun sonucunda oluşan rengin kolorimetrik olarak değerlendirilmesi ortamda canlılığını koruyan hücrelerin sayısı hakkında göreceli olarak bilgi verir.

Test bileşenleri ile muamele edilen hücrelerin kültür medyumları ortamdan uzaklaştırıldı ve %10 oranında CVDK-8 solüsyonu içeren besiyeri kuyulara eklendi. Üç saat boyunca inkübatörde bekletilen 96 kuyulu platelerden her saat başında 590 nm’de ölçüm alınarak hücrelerin değişen canlılık yüzdeleri hesaplandı. Bu aşamada elde edilen sonuçlar yardımıyla belirlenen konsantrasyonlar ile gemsitabin ve propofol, hücre hatlarına birlikte uygulanarak hücre canlılığı üzerine sinerjistik olan etkisi belirlenmiştir.

3.2.4 LDH sitotoksosite yöntemi

Gemsitabin ve propofolün prostat kanseri hücreleri üzerinde gösterebileceği toksik etkiler laktat dehidrogenaz salınım (LDH) deneyi de araştırıldı. LDH analizi, hasar gören veya ölen hücrelerden kültür ortamına salınan laktat dehidrogenaz enzimi yardımıyla sitotoksitenin araştırıldığı bir metottur. Laktat dehidrogenaz enzimi NADH' nin NAD⁺ ya oksidasyonuna paralel bir şekilde piruvatın laktata dönüştürüldüğü ortak bir reaksiyonu katalize eder (Kumar et al. 2018). LDH analizi ise hayati fonksiyonlarını yitiren hücrelerden ortama salınan laktat dehidrogenaz enziminin sarı tetrazolyum tuzunu suda çözünen formazan sınıfı kırmızı bir boyaya indirgenmesi temeline dayanan bir yöntemdir (Kabakov and Gabai 2018). Oluşan formazan miktarı, kültür ortamına salınan LDH miktarı ile doğru orantılıdır (Kumar et al. 2018). Bu ise ölen hücre miktarının bir ölçüsü olarak kabul edilir.

96 kuyucuklu platelere ekilen DU145 ve PC3 hücreleri kültür koşullarında 24 saat bekletildikten sonra gemsitabin ve propofol ile muamele edildi. Herhangi bir kimyasal içermeyen RPMI1640 full medium ile muamele edilen hücreler ile negatif kontrol grubu oluşturuldu. Triton-X ile muamele edilen hücreler ise pozitif kontrol grubunu oluşturdu. Optimum sürelerde gemsitabin ve propofol ile ayrı ayrı ve kombine bir şekilde inkübe edilen hücrelerin medyumları alınarak başka platelere aktarıldı. Thermo Scientific® firmasından ticari olarak elde edilen Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit kullanıldı. Kit solüsyonları üretici firma talimatları dikkate alınarak hazırlandı. Reaksiyon solüsyonu eklenen hücre vasatları 30 dk boyunca karanlık bir ortamda bekletildi. Bu süre sonunda sonlandırma solüsyonu ile muamele edilen hücre vasatlarından 490 ve 680 nm’lerde spektrofotometre cihazı kullanılarak absorbands değerleri alındı.

3.2.4 Toplam antioksidan kapasite (TAK) analizi

Gemsitabin ve propofol ile muamele edilen DU145 ve PC3 hücrelerinde oluşan oksidatif stresi değerlendirmek amacı ile Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) analizi gerçekleştirildi.

TAK analizi, kültür ortamındaki antioksidanların kültür ortamına eklenen koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz ABTS formuna indirgemesi sonucu oluşan absorbans farkı ile tespiti esasına dayanır (Erel, 2004).

Rel Assay Diagnostics® firmasında temin edilen Total Antioxidant Status Assay Kit kullanılarak TAK analizleri gerçekleştirildi. Kit bileşenleri Çizelge 3.3’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.4. TAK bileşenleri ve miktarları.

Kit Bileşenleri	Miktarları
Reaktif 2 Solüsyonu	10 ml
Standard 2 Solüsyonu	10 ml
Reaktif 1 Solüsyonu	50 ml
Standard 1 Solüsyonu	10 ml

Test bileşenleri ile muamele edilen hücrelerden 30 µl besiyeri alındı ve 96 kuyucuklu platelere aktarıldı. Üzerine 500 µl Reaktif 1 solüsyonu eklenip 660 nm’de absorbans ölçümü yapıldı ve her kuyuya 75 µl Reaktif 2 solüsyonu eklendi. 10 dk beklendikten sonra 660 nm’de ikinci kez absorbans ölçümü yapıldı. Elde edilen çıktılar formül 3.2’de belirtildiği gibi hesaplanarak TAK düzeyleri belirlendi.

$$\text{TAK (mmol Trolox Equiv./L)} = \frac{[(\Delta \text{Standart 1'in değeri}) - (\Delta \text{Örneğin değeri})]}{[(\Delta \text{Standart 1'in değeri}) - (\Delta \text{Standart 2'nin absorbanstı})]} \times 20 \quad (3.2)$$

3.2.5 Total oksidan durum (TOD) analizi

Gemsitabin ve propofol ile muamele edilen hücrelerde değişen oksidan miktarını tespit etmek için Total Oksidan Durum (TOD) analizi gerçekleştirildi. TOD analizi hidrojen peroksit ile kalibre edilir ve kültür ortamındaki ferroz iyon kompleksinin ferrik iyona okside edilmesi esasına dayanır (Erel, 2005). Oluşan ferrik iyon asidik ortamda

3. MATERYAL ve YÖNTEM

kromojen ile spektrofotometrik olarak ölçülebilen renkli bir kompleks oluşturur (Erel, 2005).

Rel Assay Diagnostics® firmasından temin edilen Total Oxidant Status Assay Kit yardımı ile TOD analizleri yapıldı. Kit bileşenleri Çizelge 3.4'te gösterildi.

Çizelge 3.5. TOD bileşenleri ve miktarları.

Kit Bileşenleri	Miktarları
Reaktif 2 Solüsyonu	10 ml
Standard 2 Solüsyonu	10ml
Reaktif 1 Solüsyonu	50 ml
Standard 1 Solüsyonu	10 ml

96 kuyucuklu platelerde bulunan 75 µl plazma örneklerinin üzerine 500 µl Reaktif 1 solüsyonu eklenerek 530 nm'de ilk absorbans ölçümü yapıldı. Ardından tüm kuyulara 25 µl Reaktif 2 solüsyonu eklendi ve 10 dk beklendikten sonra 530 nm'de ikinci absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Elde edilen veriler formül 3.3'te belirtildiği şekilde hesaplanarak TOD düzeyleri belirlendi.

$$\text{TOD } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv./L}) = \frac{(\Delta\text{Örneğin değeri})}{2a(\Delta\text{Standart 2'nin değeri})} \times (\text{Standart 2 değeri}) \quad (3.3)$$

3.2.6 Western blot analizi

6 kuyucuklu platelere her kuyuda 1.5×10^5 hücre olacak şekilde ekilen DU145 ve PC3 hücre hatlarına optimum sürelerde propofol ve/veya gempitabin ile muamele edildi. Muamele sonrası buz üzerinde besiyeri uzaklaştırılan hücreler PBS ile yıkandı. Sırasıyla 100:1:1 oranında karıştırılan RIPA Lysing Buffer, PMSF ve proteaz inhibitör kokteyli kuyulara eklenerek hücre kazıyıcı yardımıyla kazındı. Kuyulardaki hücre ve liziz bufferından oluşan vasat ependorf tüplere alınarak üçer defa sıvı azotta dondur-çöz işlemi yapıldı. Üçüncü dondur-çöz işleminden sonra 5 dk buz üzerinde bekletilen ependorf tüpler 4 °C'de 13000 rpm 'de 10 dk santrifüj edildi ve süpernatant başka bir ependorfa aktarıldı. Süpernatant ile eşit miktarda Leamni Buffer ependorfa eklendi ve 100 °C'de 5 dk kaynatılarak kullanılacağı zamana dek -80 °C'de muhafaza edildi.

Hücrelerden izole edilen proteinleri ayırmak amacı ile yapılan SDS-PAGE'de

3. MATERYAL ve YÖNTEM

%4'lük ve %10'luk yoğunluğa sahip olan iki fazlı bir jel kullanıldı. Jel hazırlama için kullanılan malzemeler ve miktarları Çizelge 3.5 ve Çizelge 3.6'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.6. SDS-PAGE için %4'lük yürütme jelinin hazırlanışı.

Yürütme jeli (%4'lük)	Hacim
Akrilamid+bis akrilamid(%29+%1)	397,5 µl
Saf su	2,175 ml
Tris-HCl (pH:6.8)	375 µl
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	30 µl
Amonyum persülfat (%10)	30 µl
TEMED	7,5 µl

Çizelge 3.7. SDS-PAGE için %10'luk ayırma jelinin hazırlanışı.

Ayırma jeli (%10'luk)	Hacim
Akrilamid+bis akrilamid(%29+%1)	1,65 ml
Saf su	1,4 ml
Tris-HCl (pH:8.8)	1,875 ml
Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)	50 µl
Amonyum persülfat (%10)	50 µl
TEMED	2 µl

Yukarda belirtilen miktarlara göre hazırlanan %10'luk ayırma jeli iki cam plaka arasına döküldükten sonra üzerine izopropanol eklendi ve 25-30 dk polimerize olması beklendi. Polimerize olan jelin üzerinden izopropanol uzaklaştırıldı ve kurutma kâğıdı ile izopropanolün kalan kısmı alındı. %4'lük hazırlanan yürütme jeli ise ayırma jelinin üzerine döküldü ve jel tarağı henüz polimerize olmamış jel üzerine özen göstererek yerleştirildi. 30-45 dk 4°C'de polimerize olması için beklenildi. Polimerize olan jelden tarak çıkartıldı ve jel kuyularına eşit miktarda protein örnekleri yüklendi. Proteinlerin bulundukları kDa'ı tayin edebilmek için yükleme tamponu (GangNam-STAIN™ Prestained Protein Ladder, iNtRON Biotechnology, Korea) kullanıldı. Protein örnekleri 1X Running Buffer ortamında yükleme jelini geçinceye dek 80 voltta yürütüldükten sonra ayırma jelinde 120 voltta yaklaşık 100 dk yürütüldü.

SDS-PAGE yardımı ile ayrılan proteinler nitroselüloz membrana transfer edilmek üzere jel sisteminden çıkartıldı. 1X Transfer Buffer ile nemlendirilen iki whatman kâğıdı arasına jel ve yine 1X Transfer Buffer ile aktiveleştirilen nitroselüloz membran konularak sandviç modeli oluşturuldu. Trans-Blot® Turbo™ Transfer System (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) cihazına yerleştirildi ve 25 voltta 1,3 amperde 21 dk transfer işlemi gerçekleştirildi. Proteinlerin membrana geçip geçmediğini kontrol etmek için Ponceau S (EcoTech Biotechnology, Erzurum, Türkiye) solüsyonu ile yatay çalkalayıcıda 5 dakika çalkalandı. PBST ile 5'er dk 3 kez membran yıkanarak %1'lik süt tozu ile 1 saat yatay çalkalayıcıda çalkalandı. Bu işlemi takiben tekrar PBST ile 5'er dk 3 kez yıkanan membran uygun antikor ile bir gece 4 °C'de bir gece inkübe edildi. Antikor ortamdan uzaklaştırıldı ve tekrar PBST ile yukarıda bahsedildiği gibi yıkandı. Sekonder antikor ile oda sıcaklığında bir saat çalkalanan membran tekrar yıkandı. Son olarak 1:1 oranında karıştırılan Pierce Enhanced Chemiluminescence (ECL) ve Western Blot Substrat (Thermo Scientific, Waltham, MA, ABD) membran üzerine eklenip 3 dk beklendikten sonra görüntüleme işlemi gerçekleştirildi. İnternal kontrol olarak ise β -aktin kullanıldı.

3.2.7 İstatistiki analiz

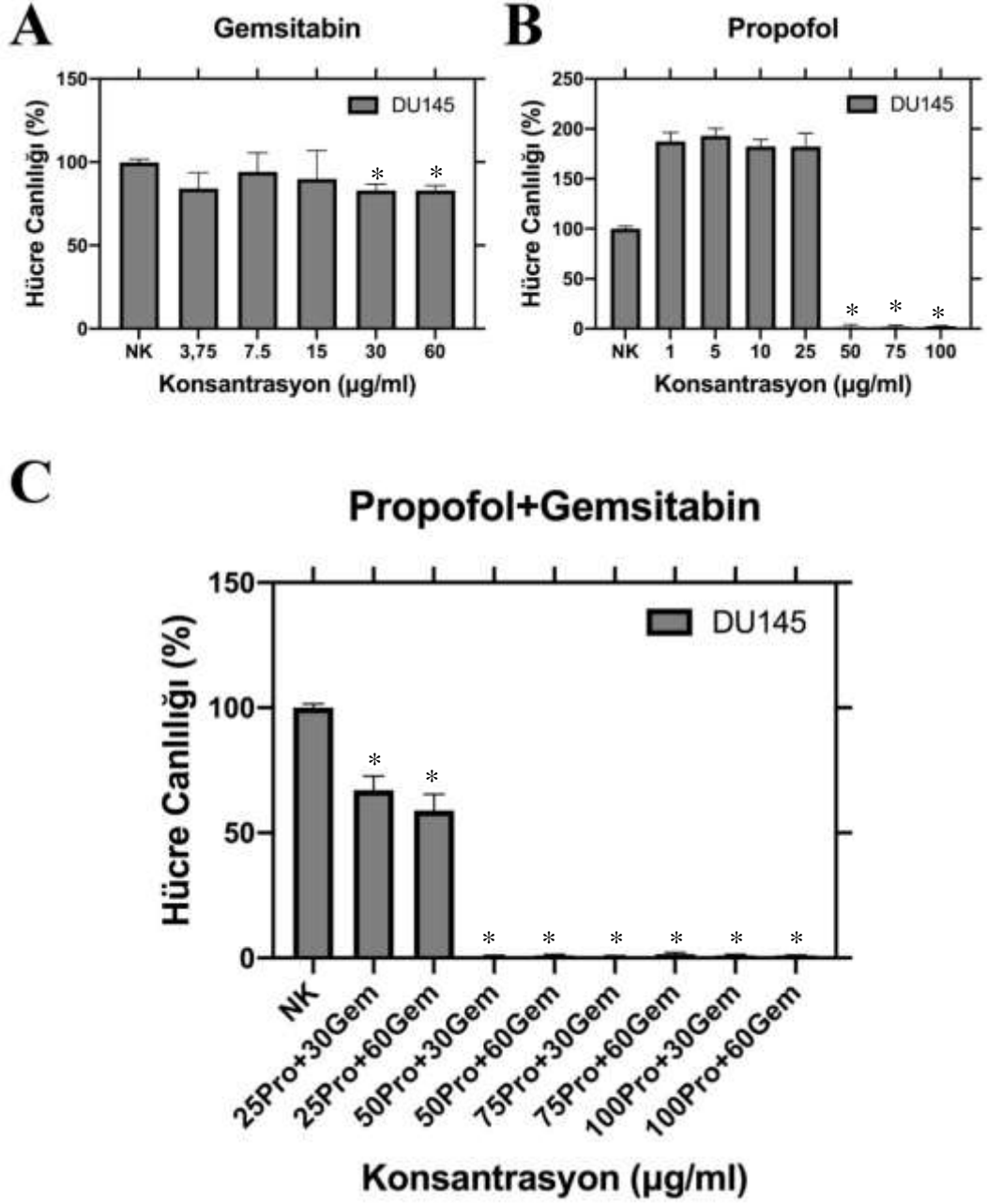
Elde edilen veriler en az üç deney tekrarının ortalamasından oluşmaktadır. Deneyler vasıtasıyla elde edilen tüm sayısal çıktılar Student's T-Test'i yardımı ile istatistiki olarak değerlendirilmiştir. Anlamlı değişimler için * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ ve **** $p < 0,0001$ olarak kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1 Araştırma Bulguları

4.1.1 Gemsitabin ve propofolün prostat kanseri hücreleri üzerine olan sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi

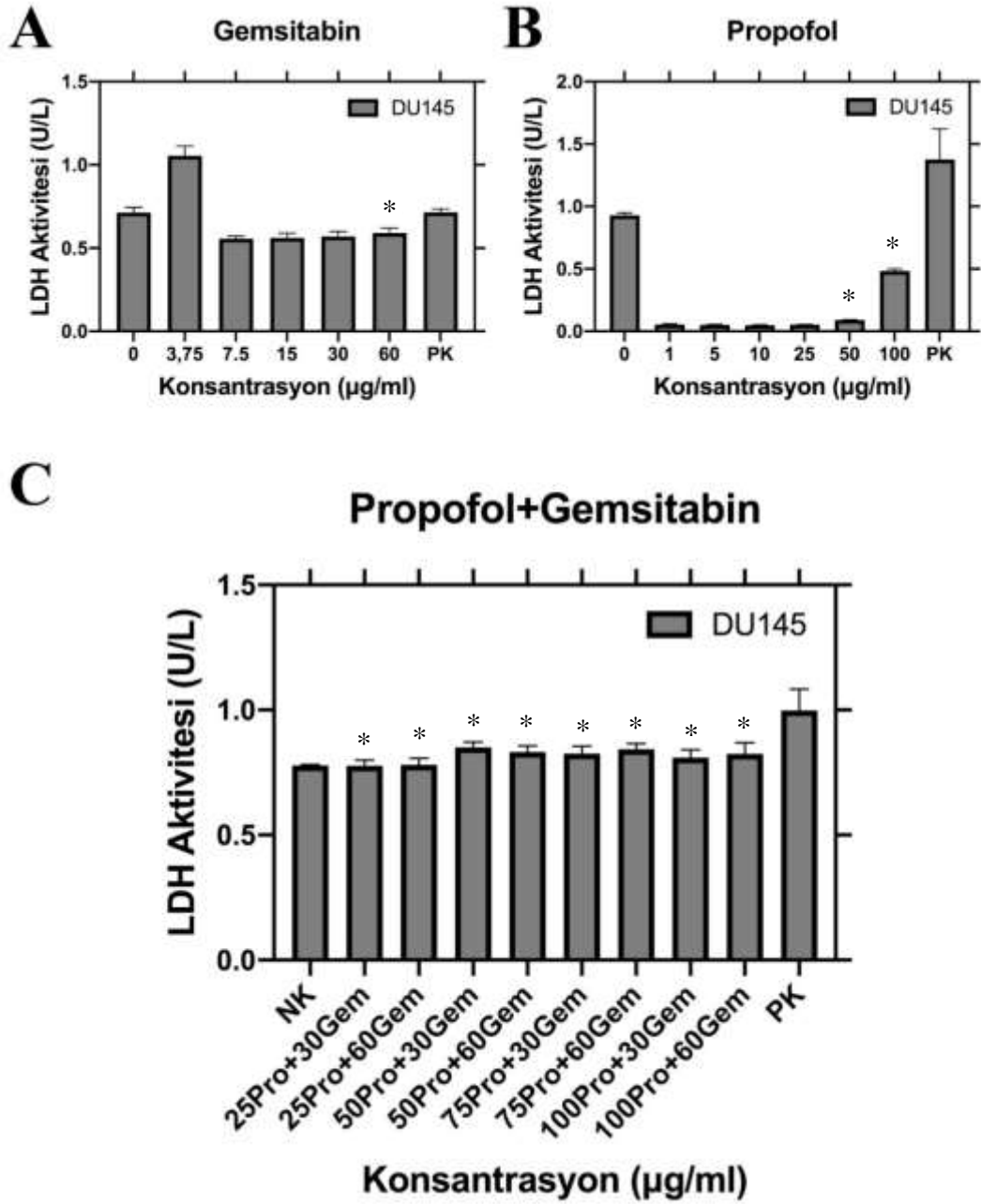
DU145 ve PC3 hücrelerinde gemsitabin, propofol ve her ikisinin eş zamanlı olarak uygulanmasının sitotoksik etkileri CVDK-8 ve LDH testleri kullanılarak araştırıldı. Şekil 4.1’de gösterilen, DU145 hücreleri üzerinde yürütülen deneylerin sonucuna göre gemsitabin 30 ve 60 µg/ml’lik konsantrasyonlarında, propofol ise 50 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığını azaltmıştır. Her ikisi eş zamanlı uygulandığında ise propofol 25 µg/ml konsantrasyonundan itibaren hücre canlılığını istatistiki açıdan önemli bir şekilde azaltmıştır.



Şekil 4.1. Gemcitabin ve propofol maruziyeti sonrası DU145 hücrelerinde gözlenen hücre canlılık yüzdeleri. (A: Gemcitabin ile muamele edilen DU145 hücrelerinde değişen canlılık yüzdesi. B: Propofol ile muamele edilen DU145 hücrelerinde değişen canlılık yüzdesi. C: DU145 hücrelerine gemcitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu değişen hücre canlılık yüzdesi).

DU145 hücrelerinde LDH yönteminden elde edilen sonuçlara göre gemcitabin yalnız uygulandığında, tüm konsantrasyonlarda LDH aktivitesinin arttığı ancak en yüksek LDH aktivitesinin 60 µg/ml’lik konsantrasyonda olduğu gözlenirken; propofol yalnız uygulandığında 50 ve 100 µg/ml’lik konsantrasyonlarda artan bir LDH aktivitesi

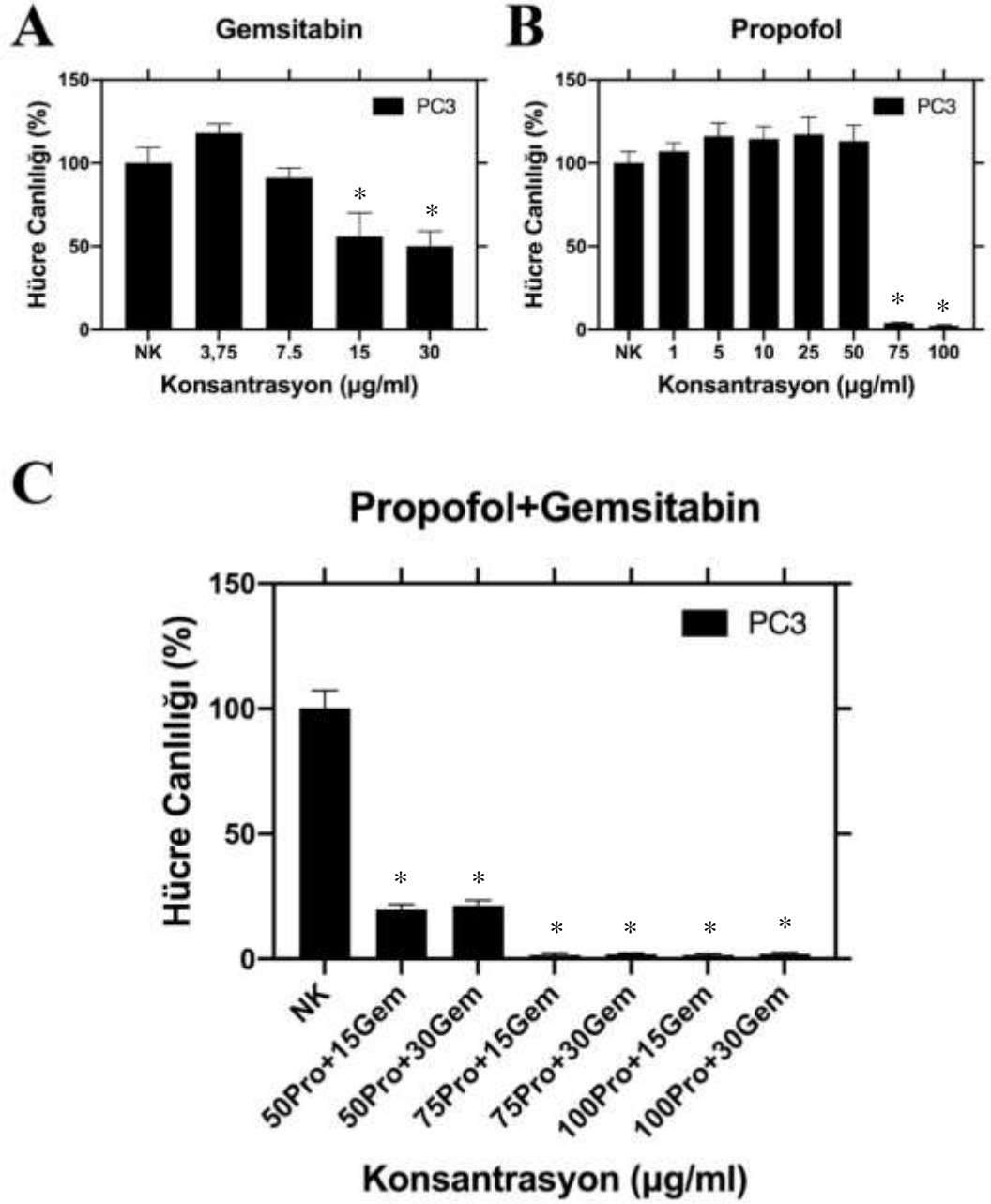
gözlemlendi. Her iki ajan beraber uygulandığında ise propofolün 25 µg/ml'lik konsantrasyonundan itibaren LDH aktivitesini artırdığı belirlendi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. DU145 hücrelerinde gemsitabin ve propofol inkübasyonu sonrası gözlenen sitotoksiste değerleri. (A: Gemsitabin ile muamele edilen DU145 hücrelerinde gözlenen sitotoksiste değerleri. B: Propofol ile muamele edilen DU145 hücrelerinde gözlenen sitotoksiste değerleri. C: DU145 hücrelerine gemsitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu gözlenen sitotoksiste değerleri).

PC3 hücrelerinin CVDK-8 analizine göre, gemsitabinin 15 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarında hücre canlılığının azaldığı gözlenirken propofolün 75 ve 100 µg/ml

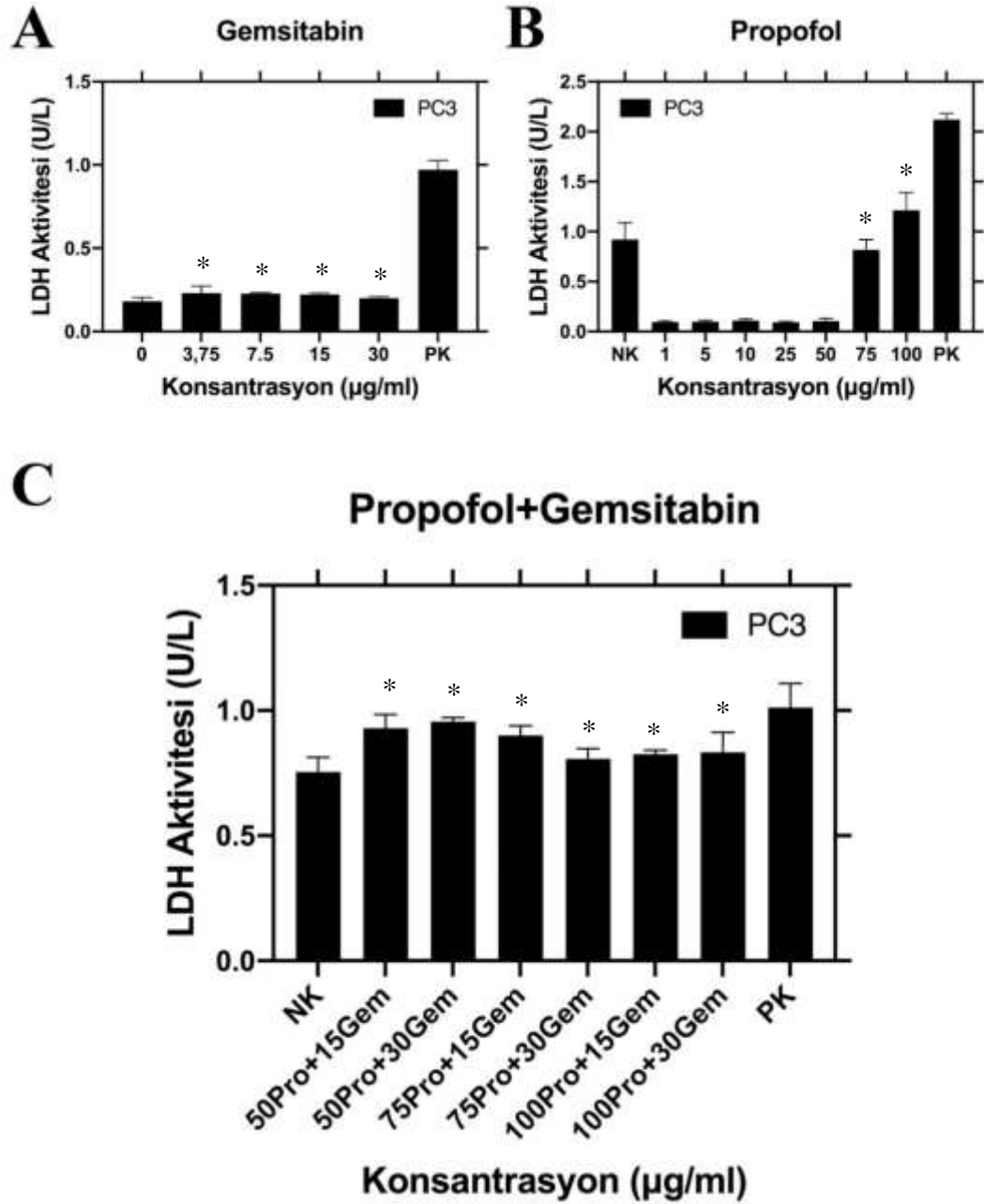
konsantrasyonları PC3 hücre hattında canlılığı azaltmıştır. Her iki ajanın birlikte muamelesinde tüm muamele gruplarında konsantrasyona bağlı olarak canlılık oranında azalma gözlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Gemsitabin ve propofol maruziyeti sonrası PC3 hücrelerinde gözlenen hücre canlılık yüzdeleri. (A: Gemsitabin ile muamele edilen PC3 hücrelerinde değişen canlılık yüzdesi. B: Propofol ile muamele edilen PC3 hücrelerinde değişen canlılık yüzdesi. C: PC3 hücrelerine gemsitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu değişen hücre canlılık yüzdesi).

PC3 hücreleri için gerçekleştirilen LDH analizinde ise uygulanan tüm gemsitabin konsantrasyonlarında ve propofolün 75 ve 100 µg/ml konsantrasyonlarında hücre dışı

ortama salınan LDH miktarında istatistiki olarak anlamlı artış gözlemlendi. Eş zamanlı muamele sonucunda ise uygulanan tüm konsantrasyonlarda LDH aktivitesi artışı gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).

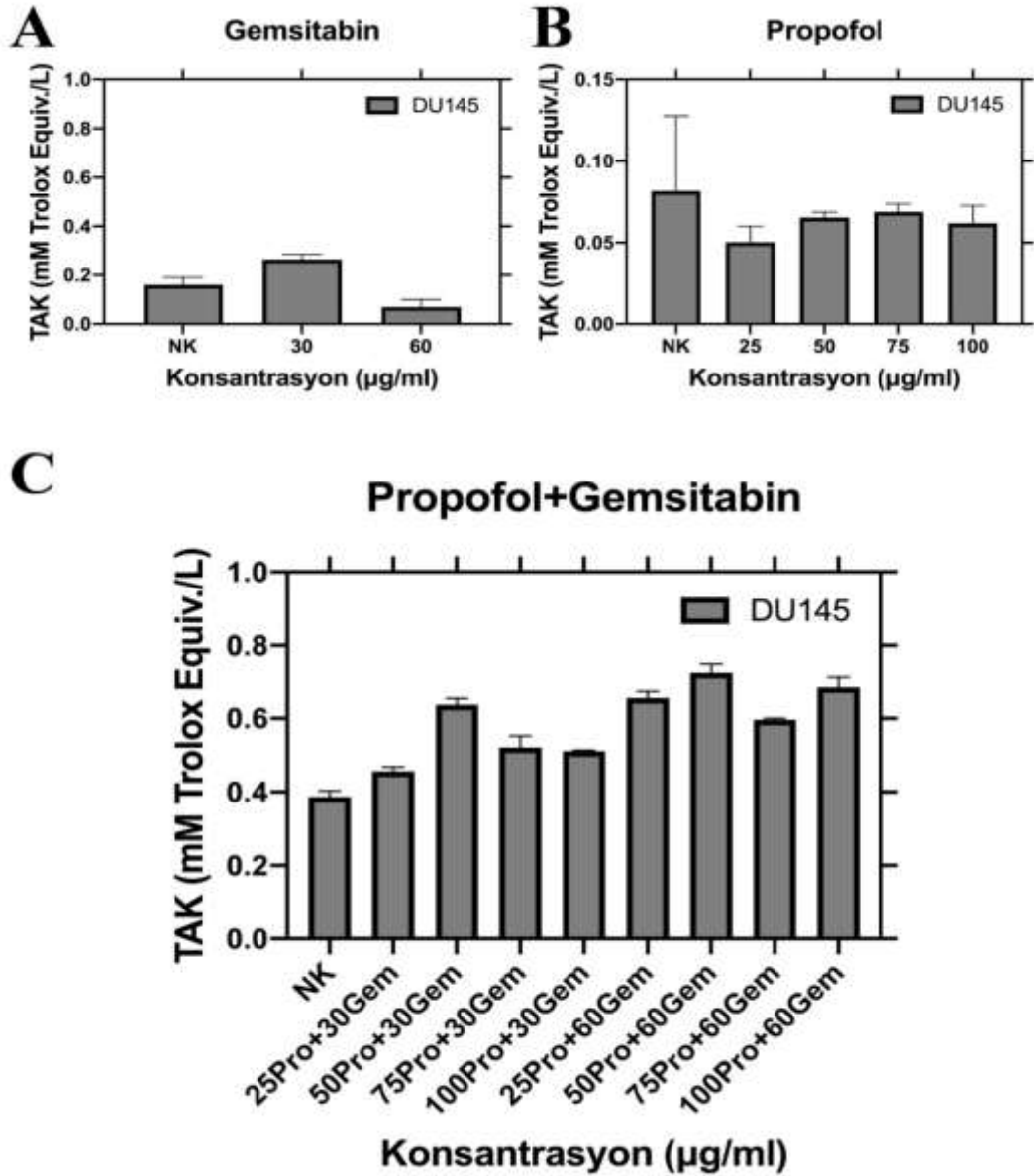


Şekil 4.4. PC3 hücrelerinde gemsitabin ve propofol inkübasyonu sonrası gözlenen sitotoksosite değerleri. (A: Gemcitabin ile muamele edilen PC3 hücrelerinde gözlenen sitotoksosite değerleri. B: Propofol ile muamele edilen PC3 hücrelerinde gözlenen sitotoksosite değerleri. C: PC3 hücrelerine gemsitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu gözlenen sitotoksosite değerleri).

4.1.2 Gemsitabin ve propofolün prostat kanseri hücrelerinde oluşturduğu biyokimyasal yanıtlar

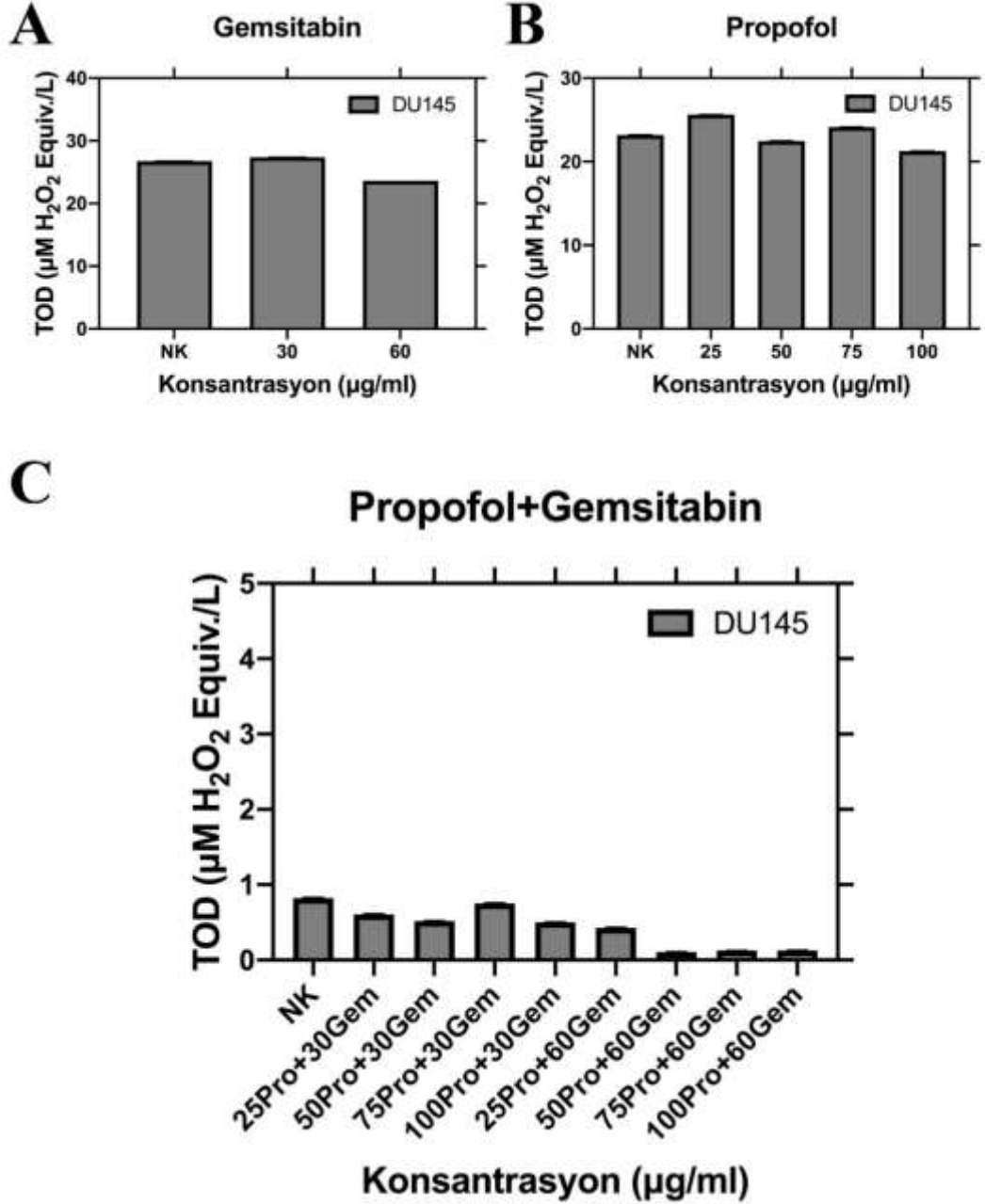
Gemsitabin ve propofolün hücrelerde oluşturduğu oksidatif stres yanıtları TAK ve TOD yöntemleri ile belirlenmiştir.

DU145 hücrelerine gemsitabinin 30 ve 60 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonları ile propofolün 25, 50, 75 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonları ayrı ayrı ve birlikte uygulanmıştır. TAK ve TOD değerlerinde istatistiki açıdan anlamlı bir değişim olmamıştır (Şekil 4.5-4.6).



Şekil 4.5. *In vitro* koşullar altında, gemsitabin ve propofolün DU145 hücrelerinde neden olduğu TAK değerleri. (A: Gemsitabin ile muamele edilen DU145 hücrelerinde tespit edilen TAK değerleri. B: Propofol ile muamele edilen DU145 hücrelerinde tespit edilen TAK değerleri. C: DU145 hücrelerine

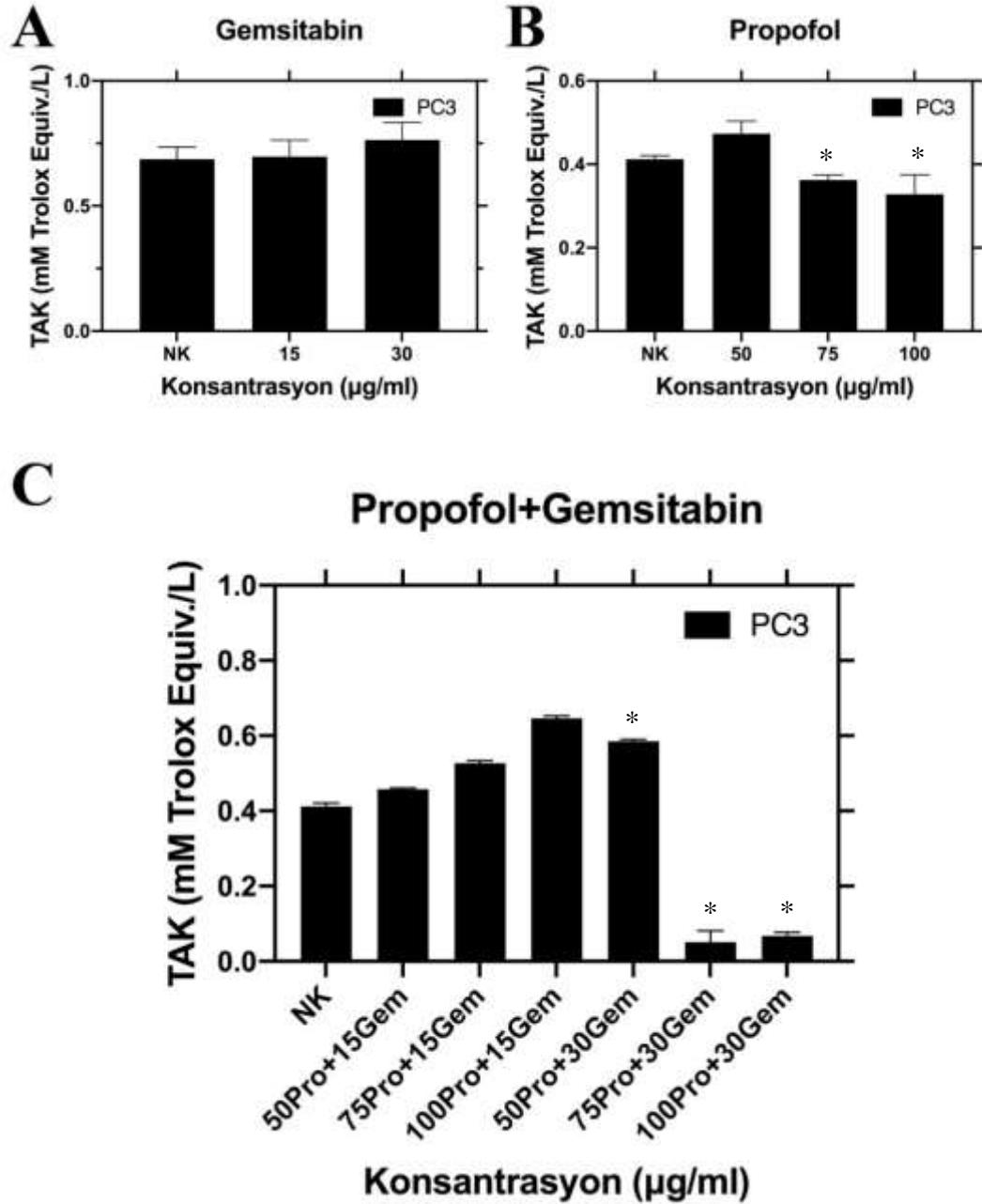
gemsitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu tespit edilen TAK değerleri).



Şekil 4.6. *İn vitro* koşullar altında, gemsitabin ve propofolün DU145 hücrelerinde neden olduğu TOD değerleri. (A: Gemsitabin ile muamele edilen DU145 hücrelerinde tespit edilen TOD değerleri. B: Propofol ile muamele edilen DU145 hücrelerinde tespit edilen TOD değerleri. C: DU145 hücrelerine gemsitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu tespit edilen TOD değerleri).

TAK değerlerine göre PC3 hücrelerinde gemsitabin uygulandığı her iki konsantrasyonda da TAK değerini azaltırken, propofol 75 ve 100 µg/ml'lik konsantrasyonlarda TAK değerini azaltmıştır. Her iki ajan eş zamanlı olarak

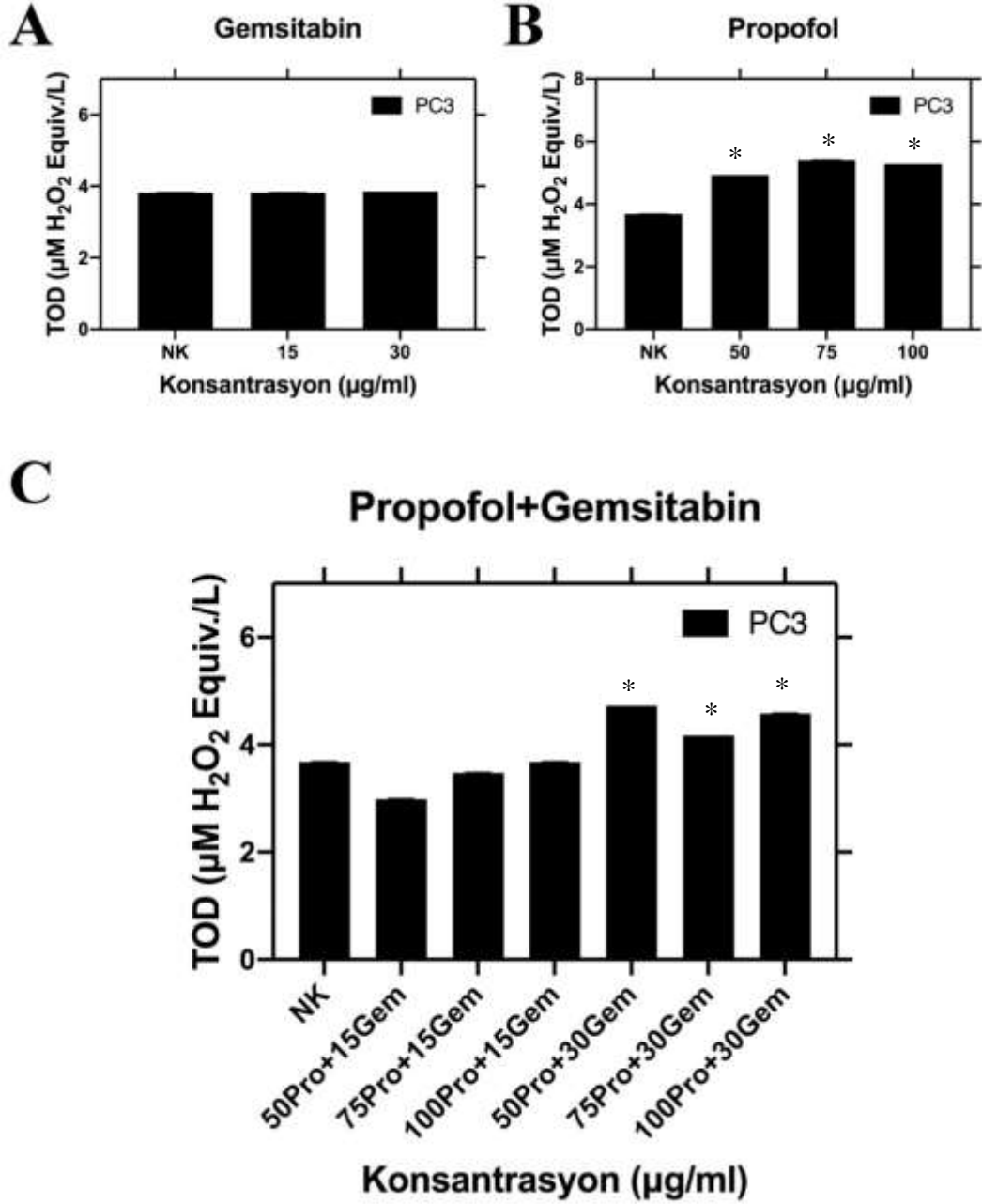
uygulandığında ise gemsitabinin 30 $\mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonu ile beraber uygulanan propofolün 50 $\mu\text{g/ml}$ ve üzeri konsantrasyonlarının TAK değerini azalttığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *In vitro* koşullar altında, gemsitabin ve propofolün PC3 hücrelerinde neden olduğu TAK değerleri. (A: Gemsitabin ile muamele edilen PC3 hücrelerinde tespit edilen TAK değerleri. B: Propofol ile muamele edilen PC3 hücrelerinde tespit edilen TAK değerleri. C: PC3 hücrelerine gemsitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu tespit edilen TAK değerleri)

PC3 hücre kültürlerinde gemsitabin uygulanan hiçbir konsantrasyonda TOD değerlerini değıştirmezen, propofol 50 $\mu\text{g/ml}$ ve üzeri konsantrasyonlarda TOD değerini

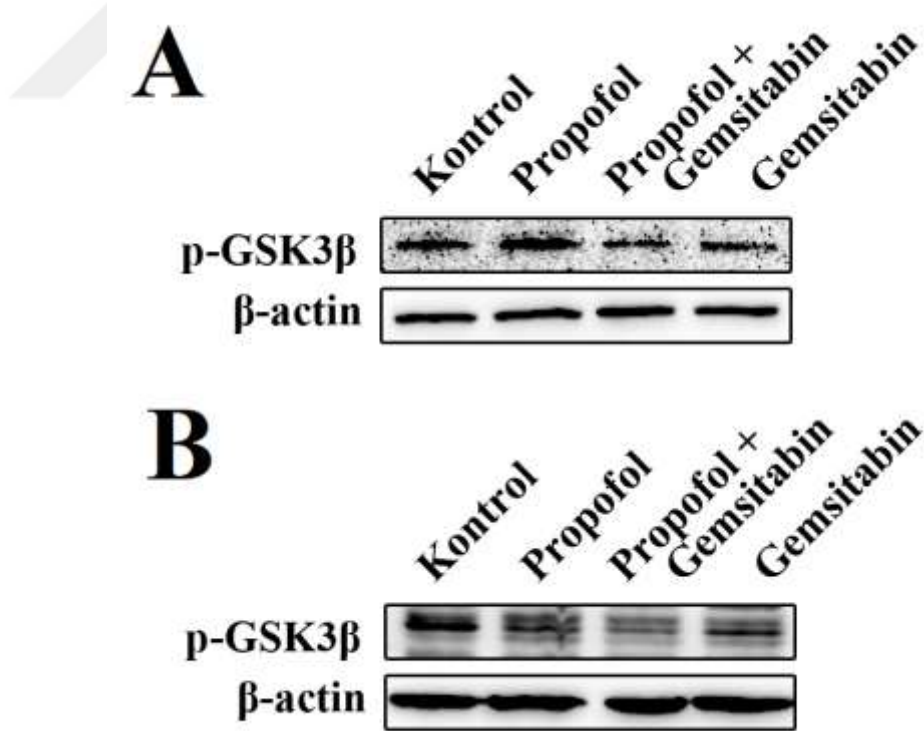
istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde artırmıştır. Her ikisi eş zamanlı olarak uygulandığında ise propofol 50 $\mu\text{g/ml}$ ve üzeri konsantrasyonlarda TOD değerini artırmıştır (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. *İn vitro* koşullar altında, gemsitabin ve propofolün PC3 hücrelerinde neden olduğu TOD değerleri. (A: Gemsitabin ile muamele edilen PC3 hücrelerinde gözlenen TOD değerleri. B: Propofol ile muamele edilen PC3 hücrelerinde gözlenen TOD değerleri. C: PC3 hücrelerine gemsitabin ve propofolün eş zamanlı muamlesi sonucu gözlenen TOD değerleri).

4.1.3 Gemsitabin ve propofolün etkilerinin moleküler düzeyde değerlendirilmesi

Gemsitabin ve propofolün kanserle ilgili hücresel özellikler üzerindeki etkilerinin hangi potansiyel yollar üzerinden gerçekleştiğinin incelenmesi için öncelikle prostat kanserinde etkin olduğu birçok çalışmada gösterilmiş olan PI3K/Akt/mTOR yolağının en son basamaklarında yer alan GSK3 β 'nın fosforillenmiş (aktif) versiyonu Western blot ile değerlendirilmiştir. Hem DU145 hem de PC3 hücrelerinde gemsitabin uygulanmış hücrelerde kontrolle kıyaslandığında pGSK3 β miktarı azalmıştır. Propofol ise DU145 hücrelerinde pGSK3 β miktarında önemli bir değişikliğe neden olmazken PC3 hücrelerinde azalmasına yol açmıştır. Bu durum hem gemsitabin hem de propofolün PI3K/Akt/mTOR yolağını inhibe ederek prostat kanseri hücrelerini öldürdüğü şeklinde yorumlanabilir. Daha da önemlisi her iki ajanla muamele edilen DU145 ve PC3 hücrelerinde seviyesi bu ajanların tek başına verildiği durumlara göre çok daha kuvvetli bir şekilde inhibe olmuştur. Bu iki ajanın birlikte kullanımı PI3K/Akt/mTOR yolağının sinerjistik bir şekilde inhibe olmasına yol açmıştır. (Şekil 4.9)



Şekil 4.9. Gemsitabin ve propofol maruziyeti sonrası A: DU145 ve B: PC3 hücrelerinin pGSK3 β seviyesi.

4.2 Tartışma

Prostat kanseri, gelişmiş ülkeler başta olmak üzere dünya genelinde 50 yaşın üzerindeki erkeklerde görülen en yaygın malignite tiplerinden biridir (Hariharan and Padmanabha 2016). Her yıl ortalama 1,6 milyon erkeğe prostat kanseri tanısı konulurken; yaklaşık 366.000 erkek bu hastalıktan ölmektedir (Pernar et al. 2018). Prostat kanserini tedavi etmek için cerrahi, kemoterapi, radyasyon tedavisi, kemo-hormonal tedavi gibi çeşitli terapötik yaklaşımlar olmasına rağmen prostat kanseri için tamamen etkili bir tedavi yöntemi henüz yoktur (Song et al. 2014; Markowski and Carducci 2017; Lavery and Cooperberg 2017). Kemoterapötiklerin en büyük dezavantajı, sadece kanserli doku için değil aynı zamanda normal dokular için de toksik etkiye sahip olmalarıdır (Jurić et al. 2020). Bu dezavantaj, toksik maddelerin daha düşük konsantrasyonlarının tercih edildiği çeşitli kemoterapötik kombinasyonlarla elemine edilebilir ve toksik etkisi olmayan bir maddenin farklı bir etki modeline sahip ek kullanımı ile tedavi potansiyeli artırılır (Du et al. 2013). Bu nedenle, kemoterapötiklerin farklı aktif maddelerle kombinasyonları, prostat kanseri tedavisinde yeni bir yaklaşım olarak kabul edilir.

Kanser hastalarında, ameliyat öncesinde ve sonrasında çeşitli anestezi ajanları kullanılır. Ancak, söz konusu anesteziğin kanser hücreleri üzerindeki detaylı etkileri henüz bilinmemektedir (Fodale et al. 2014). İntravenöz bir anestezi olan propofol özellikle ameliyat edilen hastaların ağrısını hafifletmek için kullanılır (Marik 2004; Xu et al. 2018). Son yıllarda yapılan deneysel çalışmalarda, propofolün glioma, skuamöz hücreli karsinom ve meme kanseri hücreleri dahil olmak üzere farklı hücreler üzerinde anti-kanser aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Li et al. 2012; Guo et al. 2015; Xu et al. 2018).

Mevcut çalışmada, propofolün yaygın olarak kullanılan, değerli bir kemoterapi ilacı olan gempitabin ile kombinasyon halinde kullanımını araştırıldı ve prostat kanseri hücre hatları olan DU145 ve PC3'e karşı etki potansiyelini değerlendirildi. Bu deneysel çalışmada kanser hücrelerinin propofol aracılığıyla kemoterapiye karşı hassaslaştırıldığı gempitabinin tek başına verildiği hücrelere kıyasla propofol ve gempitabinin birlikte verildiği hücrelerde hücre canlılığında daha belirgin bir azalma tespit edilmesi ile gösterildi. Ek propofol ilavesinin, her iki ajannın tek başına uygulanmasına kıyasla tümör hücre ölümünü önemli ölçüde artırdığı gösterildi. DU145 hücrelerinde, gempitabinin 30 µg/ml ve 60 µg/ml konsantrasyonları yaklaşık %17 hücre ölümüne neden olurken, propofolün 50 µg/ml ve 100 µg/ml konsantrasyonları yaklaşık %98 hücre ölümüne neden

oldu. Ayrıca DU145 hücrelerinde propofolün 25 µg/ml konsantrasyonunun toksik olmadığı gözlemlendi. Bu gözlem oldukça önemlidir, çünkü gempitabinin 30 µg/ml ve 60 µg/ml konsantrasyonları ve propofolün 25 µg/ml konsantrasyonu eş zamanlı olarak uygulandığında, hücre mortalite oranı yaklaşık %42'ye ulaştı. Benzer şekilde, PC3 hücrelerinde, gempitabinin 15 ve 30 µg/ml konsantrasyonları yaklaşık %50 hücre ölümüne neden olurken, propofolün 75 ve 100 µg/ml konsantrasyonları yaklaşık %97 hücre ölümüne neden oldu. Bunun yanı sıra propofolün 50 µg/ml konsantrasyonu PC3 hücrelerinde toksik değildi. Bu veri oldukça önemlidir, çünkü gempitabinin 15 ve 30 µg/ml konsantrasyonları ve propofolün 50 µg/ml konsantrasyonu eş zamanlı olarak uygulandığında, hücre ölüm oranı yaklaşık %50'ye ulaşmıştır. Bu sonuçlardan da görülebileceği gibi, propofol her iki hücre hattında hücre ölümünü arttırmıştır. Önceki çalışmalardan elde edilen propofolün proliferasyonu azaltıcı etkisine sahip olmasına paralel olarak biz de CVDK-8 ve LDH yöntemleriyle propofolün tek başına sadece DU145 ve PC3 hücre proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe etmediğini, aynı zamanda gempitabinin neden olduğu hücre ölümünü arttırdığı da tespit edildi. Bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde, Xu et al. (2020), düşük propofol konsantrasyonlarının hücre canlılığını arttırdığını fakat yüksek propofol konsantrasyonlarının sıçan hipokampal nöron kültürüne ait hücrelerin canlılığını azalttığını bulmuşlardır. Du et al. (2013), propofolün tek başına ve gempitabine ile kombinasyon halinde pankreas kanseri MIA-PaCa-2 hücreleri üzerindeki etkisini MTT analizi ile araştırdı. Propofol, doza ve zamana bağlı olarak hücre proliferasyonunu inhibe ederken, gempitabinin propofol ile kombinasyon halinde uygulanması, hem propofol hem de gempitabine tek başına uygulanmasına kıyasla hücre canlılığını daha etkili bir şekilde azalttı. İnsan özofagus yassı epitel hücreli karsinomu (ESCC) EC-1 hücreleri üzerinde yürütülen bir araştırmada propofolün hücre proliferasyonu üzerinde inhibisyon etkisinin doza bağlı olduğunu destekleyen kanıtlar sağlandı (Guo et al. 2015). Xu et al. (2018), CCK-8 yöntemiyle propofole maruz kalan glioma hücrelerinin (LN299) hücre canlılığını doza bağlı olarak inhibe ettiğini bildirdi. Yine fare melanom B16F10 hücreleri üzerinde yürütülen bir çalışmada, kontrole kıyasla propofolün doza ve zamana bağlı bir şekilde melanom hücre büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiğini gösterdi (Shang et al. 2018). Farklı araştırmacılar, propofolün, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (Xing et al. 2018), glioblastom ve astrosit hücrelerinin proliferasyonunda azalmaya neden olduğunu bildirdi (Hsu et al. 2017).

Oksidatif stres, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin üretimi ve yıkımı arasındaki denge bozulduğunda ortaya çıkan bir durum olup kanserin başlaması, ilerlemesi, istilas ve metastazı dahil olmak üzere kanser patogenezindeki en önemli faktörlerden biridir (Reuter et al. 2010; Lei et al. 2016; Rojas et al. 2016). Sağlıklı bir hücre kanser hücresine dönüştüğünde, ROS miktarı artışına paralel olarak oksidatif stres de artış gösterir. Fakat ironik olarak, kemoterapi, radyoterapi ve fotodinamik terapi dahil olmak üzere hemen hemen tüm cerrahi olmayan kanser tedavi yöntemlerinde, hücrelerde ROS üretimi artırılarak hücre ölümünü tetiklemek çok sık tercih edilen bir yoldur (Wang and Yi 2008). Nitekim, çalışmamızda propofolün 50 µg/ml 'nin üzerindeki konsantrasyonlarda PC3 hücrelerinde TOD seviyelerini artırdığını belirlerken, gempitabin ile birlikte uygulandığında TOD seviyelerini daha etkili bir şekilde artırdığını tespit ettik. Aynı konsantrasyonlarda propofolün PC3 hücrelerinde TAK düzeylerini düşürdüğü de gözlenmiştir. Öte yandan, iki büyük alt birimi olan laktat dehidrogenaz enzimi de hücre ölümünü tetikleyen oksidatif strese neden olur (Le et al. 2010). Artan hücre ölümüne bağlı olarak ortamdaki LDH seviyesi de artar. Biyokimyasal testler, her iki hücre hattında da propofolün gempitabin ile eş zamanlı olarak muamelesinin LDH enzim aktivitesini ayrı ayrı muamelelere kıyasla daha etkili bir şekilde artırdığını gösterdi. PANC-1 pankreas kanseri hücreleri üzerinde yürütülen bir çalışmada, doza bağımlı propofol maruziyetinin LDH salınımını artırdığı tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, propofol muamelesinin artan doza bağlı olarak hücre canlılığını azalttığı da belirlenmiştir (Liu et al. 2016). Liang and Dong 2020, insan kolon kanseri hücre hattı SW480'deki LDH aktivitesinin propofol muamele gruplarında arttığını ve bu artışın propofole maruz bırakılmamış kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli olduğunu belirtti.

PI3K-AKT-mTOR sinyal yolu, prostat kanseri hastalarında nispeten yüksek bir frekansta anormal şekilde aktive edilir ve bu yolun inhibitörleri prostat kanserine karşı potansiyel terapötik ajanlar olarak değerlendirilmektedir (Carver et al. 2011; Bitting and Armstrong 2013; Hsieh and Edlind 2014; Toren and Zoubeidi 2014; Carver et al. 2011; Crumbaker et al. 2017; Pearson et al. 2018; Pearson et al. 2018; Yang et al. 2019). Gempitabinin, kanser hücrelerinde anti-tümörjenik potansiyelini ve terapötik etkisini zayıflatan ROS üretimini tetikleyerek PI3K-AKT-mTOR sinyal yolunda değişikliğe neden olmadığı hatta aktive edebildiği bulunmuştur (Wang et al. 2020). Bu çalışmada, prostat kanseri hücrelerine gempitabin ile propofolün eş zamanlı uygulamasının, gempitabinin tek başına kullanımıyla karşılaştırıldığında anti-proliferatif potansiyelini

arttırarak PI3K-AKT-mTOR sinyal yolunun aşağı akış efektörü olan GSK3 β 'yı önemli ölçüde inhibe ettiğini gösterildi.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışma, propofolün iki farklı prostat kanseri hücresi (DU145 ve PC3) üzerindeki antikanser etkileri hakkında yeni bilgiler vermektedir. Çalışmanın sonuçları propofolün DU145 ve PC3 hücrelerinde hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığını ve bazı oksidatif stres belirteçlerinde artışa neden olduğunu gösterdi. Bunun yanı sıra, prostat kanseri hücrelerinde propofolle gempitabinin eş zamanlı olarak uygulanması, gempitabinin neden olduğu hücre ölümünü artırarak PI3K-AKT-mTOR sinyal yolunu önemli ölçüde inhibe etti. Elde edilen tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, propofolün gempitabin gibi bir kemoterapötik ajanın etkinliğini arttırdığına dair kanıtlar vardır. Fakat bu çalışmaların *in vitro* olarak yürütüldüğü göz ardı edilmemelidir. Propofol, *in vitro* koşullarda bu özelliklere sahip olmasına rağmen *in vivo* şartlar altında farklı etkilere yol açabilir. Bu nedenle, kanser hastalarında propofolün klinik uygunluğunu doğrulamak için, özellikle *in vivo* daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abate-Shen, C., Shen, M.M. 2000. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes Dev.* 14 (19) , 2410–2434. doi:10.1101/gad.819500
- Alessi, D.R., Andjelkovic, M. Caudwell, B., Cron, P., Morrice, N., Cohen, P., Hemmings, B.A. 1996. Mechanism of activation of protein kinase B by insulin and IGF-1. *EMBO J.* 15 (23) , 6541–6551.
- Ames, B.N., Gold, L.S. 1992. Animal cancer tests and cancer prevention. *J. Natl. Cancer Inst. Monographs* 12 , 125–132.
- Andreadis, A.A., Hazen, S.L. Comhair, S.A.A., Erzurum, S.C. 2003. Oxidative and nitrosative events in asthma. *Free Radical Biology and Medicine* 35 (3) , 213–225. doi:10.1016/S0891-5849(03)00278-8
- Asami, S. 1997. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis* 18 (9) , 1763–1766. doi:10.1093/carcin/18.9.1763
- Awsare, N.S. Green, J.A., Aldwinckle, B., Hanbury, D.C., Boustead, G.B., McNicholas, T.A. 2007. The use of propofol sedation for transrectal ultrasonography-guided prostate biopsy is associated with high patient satisfaction and acceptability. *European Journal of Radiology* 63 (1) , 94–95. doi:10.1016/j.ejrad.2006.12.010
- Aydın, E. 2013. Monosiklik ve bisiklik monoterpen uygulamasının deneysel beyin tümör modeli üzerine potansiyel etkilerinin in vitro yöntemlerle araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 25-26, Erzurum.
- Baca, S.C., Prandi, D., Lawrence, M.S., Mosquera, J.M., Romanel, A., Drier, Y., Park, K., Kitabayashi, N., MacDonald, T.Y., Ghandi, M., Van Allen, E., Kryukov, G.V., Sboner, A., Theurillat, J.-P., Soong, T.D., Nickerson, E., Auclair, D., Tewari, A., Beltran, H., Onofrio, R.C., Boysen, G., Guiducci, C., Barbieri, C.E., Cibulskis, K., Sivachenko, A., Carter, S.L., Saksena, G., Voet, D., Ramos, A.H., Winckler, W., Cipicchio, M., Ardlie, K., Kantoff, P.W., Berger, M.F., Gabriel, S.B., Golub, T.R., Meyerson, M., Lander, E.S., Elemento, O., Getz, G., Demichelis, F., Rubin, M.A., Garraway, L.A. 2013. Punctuated Evolution of Prostate Cancer Genomes. *Cell* 153 (3) , 666–677. doi:10.1016/j.cell.2013.03.021
- Bahuguna, A., Khan, I., Bajpai, V.K., Kang, S.C. 2017. MTT assay to evaluate the cytotoxic potential of a drug. 1 12 2 , Online: Apr 8-2017. doi:10.3329/bjp.v12i2.30892
- Barbieri, C.E., Baca, S.C., Lawrence, M.S., Demichelis, F., Blattner, M., Theurillat, J.-P., White, T.A., Stojanov, P., Van Allen, E., Stransky, N., Nickerson, E., Chae, S.-S., Boysen, G., Auclair, D., Onofrio, R.C., Park, K., Kitabayashi, N., MacDonald, T.Y., Sheikh, K., Vuong, T., Guiducci, C., Cibulskis, K., Sivachenko, A., Carter, S.L., Saksena, G., Voet, D., Hussain, W.M., Ramos, A.H.,

- Winckler, W., Redman, M.C., Ardlie, K., Tewari, A.K., Mosquera, J.M., Rupp, N., Wild, P.J., Moch, H., Morrissey, C., Nelson, P.S., Kantoff, P.W., Gabriel, S.B., Golub, T.R., Meyerson, M., Lander, E.S., Getz, G., Rubin, M.A., Garraway, L.A. 2012. Exome sequencing identifies recurrent SPOP, FOXA1 and MED12 mutations in prostate cancer. *Nat Genet* 44 (6) , 685–689. doi:10.1038/ng.2279
- Bärlund, M., Forozan, F., Kononen, J., Bubendorf, L., Chen, Y., Bittner, M.L., Torhorst, J., Haas, P., Bucher, C., Sauter, G., Kallioniemi, O.-P., Kallioniemi, A. 2000a. Detecting Activation of Ribosomal Protein S6 Kinase by Complementary DNA and Tissue Microarray Analysis. *J Natl Cancer Inst* 92 (15) , 1252–1259. doi:10.1093/jnci/92.15.1252
- Bärlund, M., Monni, O., Kononen, J., Cornelison, R., Torhorst, J., Sauter, G., Kallioniemi, O.-P., Kallioniemi, A. 2000b. Multiple Genes at 17q23 Undergo Amplification and Overexpression in Breast Cancer. *Cancer Res* 60 (19) , 5340–5344.
- Bartek, J., Lukas, C., Lukas, J. 2004. Checking on DNA damage in S phase. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5 1(0) , 792–804. doi:10.1038/nrm1493
- Belic, J., Graf, R., Bauernhofer, T., Cherkas, Y., Ulz, P., Waldispuehl-Geigl, J., Perakis, S., Gormley, M., Patel, J., Li, W., Geigl, J.B., Smirnov, D., Heitzer, E., Gross, M., Speicher, M.R. 2018. Genomic alterations in plasma DNA from patients with metastasized prostate cancer receiving abiraterone or enzalutamide: Prostate cancer and plasma DNA analyses. *Int. J. Cancer* 143 (5) , 1236–1248. doi:10.1002/ijc.31397
- Bellacosa, A., Feo, D.D., Godwin, A.K., Bell, D.W., Cheng, J.Q., Altomare, D.A., Wan, M., Dubeau, L., Scambia, G., Masciullo, V., Ferrandina, G., Panici, P.B., Mancuso, S., Neri, G., Testa, J.R. 1995. Molecular alterations of the AKT2 oncogene in ovarian and breast carcinomas. *International Journal of Cancer*, 64 (4), 280–285. doi:10.1002/ijc.2910640412
- Bergman, A.M., Pinedo, H.M., Peters, G.J. 2002. Determinants of resistance to 2',2'-difluorodeoxycytidine (gemcitabine). *Drug Resistance Updates*, 5 (1) , 19–33. doi:10.1016/S1368-7646(02)00002-X
- Bhanot, P., Brink, M., Samos, C.H., Hsieh, J.-C., Wang, Y., Macke, J.P., Andrew, D., Nathans, J., Nusse, R. 1996. A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature*, 382 (6588) , 225–230.
- Biki, B., Mascha, E., Moriarty, D.C., Fitzpatrick, J.M., Sessler, D.I., Buggy, D.J. 2008. Anesthetic technique for radical prostatectomy surgery affects cancer recurrence: a retrospective analysis. *Anesthesiology*, 109 (2) , 180–187.
- Birben, E., Sahiner, U.M., Sackesen, C., Erzurum, S., Kalayci, O. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ, J* 5 (1) , 9–19.
- Bousoik, E., Montazeri Aliabadi, H. 2018. “Do We Know Jack” About JAK? A Closer Look at JAK/STAT Signaling Pathway. *Frontiers in Oncology* 8.

- Bovolenta, P., Esteve, P., Ruiz, J.M., Cisneros, E., Lopez-Rios, J. 2008. Beyond Wnt inhibition: new functions of secreted Frizzled-related proteins in development and disease. *Journal of Cell Science*, 121 (6) , 737–746.
- Bitting, R.L., Armstrong, A.J. 2013. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in castration-resistant prostate cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 20 (3) , R83–R99.
- Burton, G.J., Jauniaux, E. 2011. Oxidative stress. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, Placental Bed & Maternal - Fetal Disorders*, 25 (3) , 287–299.
- Carver, B.S., Chapinski, C. Wongvipat, J., Hieronymus, H., Chen, Y., Chandralapaty, S., Arora, V.K., Le, C., Koutcher, J., Scher, H., Scardino, P.T., Rosen, N., Sawyers, C.L. 2011. Reciprocal Feedback Regulation of PI3K and Androgen Receptor Signaling in PTEN-Deficient Prostate Cancer. *Cancer Cell*, 19 (5) , 575–586.
- Chandler, N.M., Canete, J.J., Callery, M.P. 2004. Caspase-3 drives apoptosis in pancreatic cancer cells after treatment with gemcitabine. *J Gastrointest Surg*, 8 (8) , 1072–1078.
- Chandrasekaran, A., Idelchik, M.D.P.S., Melendez, J.A. 2017. Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biol*, 11, 91–102.
- Chang, J.-G., Chen, Y.-J., Perng, L.-I., Wang, N.M., Kao, M.-C., Yang, T.-Y., Chang, C.-P., Tsai, C.-H. 1999. Mutation analysis of the PTEN/MMAC1 gene in cancers of the digestive tract. *European Journal of Cancer*, 35 (4) , 647–651.
- Chen, X., Wu, Q., You, L., Chen, S., Zhu, M., Miao, C. 2017. Propofol Attenuates Pancreatic Cancer Malignant Potential via Inhibition of NMDA Receptor. *European Journal of Pharmacology*, 795, 150–59.
- Chidambaran, V., Costandi, A., D’Mello, A. 2015. Propofol: A Review of its Role in Pediatric Anesthesia and Sedation. *CNS Drugs*, 29 (7) , 543–563.
- Chong, H., Vikis, H.G., Guan, K.-L. 2003. Mechanisms of regulating the Raf kinase family. *Cell. Signal.*, 15 (5) , 463–469.
- Christopherson, R., James, K.E., Tableman, M., Marshall, P., Johnson, F.E. 2008. Long-term survival after colon cancer surgery: a variation associated with choice of anesthesia. *Anesth. Analg.*, 107 (1) , 325–332.
- Clevers, H., 2006. Wnt/ β -Catenin Signaling in Development and Disease. *Cell*, 127 (3) , 469–480.
- Comhair, S.A. A., Ricci, K.S., Arroliga, M., Lara, A.R., Dweik, R.A., Song, W., Hazen, S.L., Bleecker, E.R., Busse, W.W., Chung, K.F., Gaston, B., Hastie, A., Hew, M., Jarjour, N., Moore, W., Peters, S., Teague, W.G., Wenzel, S.E., Erzurum, S.C. 2005a. Correlation of Systemic Superoxide Dismutase Deficiency to Airflow Obstruction in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 172 (3) , 306–313.

- Comhair, S.A.A., Xu, W., Ghosh, S., Thunnissen, F.B.J.M., Almasan, A., Calhoun, W.J., Janocha, A.J., Zheng, L., Hazen, S.L., Erzurum, S.C. 2005b. Superoxide Dismutase Inactivation in Pathophysiology of Asthmatic Airway Remodeling and Reactivity. *The American Journal of Pathology*, 166 (3) , 663–674.
- Costello, L.C., Franklin, R.B. 2006. The clinical relevance of the metabolism of prostate cancer; zinc and tumor suppression: connecting the dots. *Mol Cancer*, 5 (1) , 17.
- Costello, L.C., Franklin, R.B. 2005. ‘Why do tumour cells glycolyse?’: From glycolysis through citrate to lipogenesis. *Mol Cell Biochem*, 280 (1).
- Costello, L.C., Franklin, R.B. 2000. The Intermediary Metabolism of the Prostate: A Key to Understanding the Pathogenesis and Progression of Prostate Malignancy. *OCL*, 59 (4), 269–282.
- Coudreuse, D.Y.M. 2006. Wnt Gradient Formation Requires Retromer Function in Wnt-Producing Cells. *Science*, 312 (5775) , 921–924.
- Crumbaker, M., Khoja, L., Joshua, A. 2017. AR Signaling and the PI3K Pathway in Prostate Cancer. *Cancers*, 9 (12) , 34.
- Danaei, G., Vander Hoorn, S., Lopez, A.D., Murray, C.J., Ezzati, M. 2005. Causes of cancer in the world: comparative risk assessment of nine behavioural and environmental risk factors. *The Lancet*, 366 (9499) , 1784–1793.
- Datta, S.R., Brunet, A., Greenberg, M.E. 1999. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev*, 13 (22) , 2905–2927.
- De Luca, A., Maiello, M.R., D’Alessio, A., Pergameno, M., Normanno, N. 2012. The RAS/RAF/MEK/ERK and the PI3K/AKT signalling pathways: role in cancer pathogenesis and implications for therapeutic approaches. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 16 (sup2) , S17–S27.
- de Oliveira, G.S., Ahmad, S., Schink, J.C., Singh, D.K., Fitzgerald, P.C., McCarthy, R.J. 2011. Intraoperative neuraxial anesthesia but not postoperative neuraxial analgesia is associated with increased relapse-free survival in ovarian cancer patients after primary cytoreductive surgery. *Reg Anesth Pain Med*, 36 (3), 271–277.
- de Sousa Cavalcante, L., Monteiro, G. 2014. Gemcitabine: Metabolism and molecular mechanisms of action, sensitivity and chemoresistance in pancreatic cancer. *European Journal of Pharmacology*, 741, 8–16.
- Debes, J.D., Tindall, D.J. 2004. Mechanisms of Androgen-Refractory Prostate Cancer. *N Engl J Med*, 351 (15) , 1488–1490.
- Decker, T., Kovarik, P. 2000. Serine phosphorylation of STATs. *Oncogene*, 19 (21) , 2628–2637.

- Delire, B., Stärkel, P. 2015. The Ras/MAPK pathway and hepatocarcinoma: pathogenesis and therapeutic implications. *European Journal of Clinical Investigation*, 45(6) , 609–623.
- Demaria, M., O’Leary, M.N., Chang, J., Shao, L., Liu, S., Alimirah, F., Koenig, K., Le, C., Mitin, N., Deal, A.M., Alston, S., Academia, E.C., Kilmarx, S., Valdovinos, A., Wang, B., de Bruin, A., Kennedy, B.K., Melov, S., Zhou, D., Sharpless, N.E., Muss, H., Campisi, J. 2017. Cellular Senescence Promotes Adverse Effects of Chemotherapy and Cancer Relapse. *Cancer Discov*, 7 (2) , 165–176.
- Deng, F., Ouyang, M., Wang, X., Yao, X., Chen, Y., Tao, T., Sun, X., Xu, L., Tang, J., Zhao, L. 2016. Differential role of intravenous anesthetics in colorectal cancer progression: implications for clinical application. *Oncotarget*, 7 (47) , 77087–77095.
- Desousa, K. 2016. Pain on propofol injection: Causes and remedies. *Indian J Pharmacol*, 48 (6), 617.
- Dhalla, N.S., Temsah, R.M., Netticadan, T. 2000. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases: *Journal of Hypertension*, 18 (6) , 655–673.
- Dhillon, A.S., Hagan, S., Rath, O., Kolch, W. 2007. MAP kinase signalling pathways in cancer. *Oncogene*, 26 (22) , 3279–3290.
- Du, Q.-H. 2013. Propofol induces apoptosis and increases gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer cells *in vitro* by inhibition of nuclear factor- κ B activity. *WJG*, 19 (33) , 5485.
- Dunn, P.M. 2002. Sir James Young Simpson (1811–1870) and obstetric anaesthesia. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, 86 (3) , F207–F209.
- Dut, R., Dizdar, E.A., Birben, E., Sackesen, C., Soyer, O.U., Besler, T., Kalayci, O. 2008. Oxidative stress and its determinants in the airways of children with asthma. *Allergy*, 63 (12) , 1605–1609.
- Dy, G.K., Adjei, A.A. 2008. Systemic cancer therapy: Evolution over the last 60 years. *Cancer*, 113 (S7) , 1857–1887.
- Elias, K.M., Kang, S., Liu, X., Horowitz, N.S., Berkowitz, R.S., Frendl, G. 2015. Anesthetic selection and disease-free survival following optimal primary cytoreductive surgery for stage III epithelial ovarian cancer. *Ann. Surg. Oncol.*, 22 (4) , 1341–1348.
- Ercan, H., Birben, E., Dizdar, E., Keskin, O., Karaaslan, C., Soyer, O., Dut, R., Sackesen, C., Besler, T., Kalayci, O. 2006. Oxidative stress and genetic and epidemiologic determinants of oxidant injury in childhood asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 118 (5) , 1097–1104.

- Erel, O. 2004. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clinical Biochemistry*, 37 (2) , 112–119.
- Erel, O. 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38 (12) , 1103–1111.
- Esteller, M. 2002. CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: a booming present, a brighter future. *Oncogene*, 21 (35) , 5427–5440.
- Exadaktylos, A.K., Buggy, D.J., Moriarty, D.C., Mascha, E., Sessler, D.I. 2006. Can anesthetic technique for primary breast cancer surgery affect recurrence or metastasis? *Anesthesiology*, 105 (4) , 660–664.
- Feldman, B.J., Feldman, D. 2001. The development of androgen-independent prostate cancer. *Nat Rev Cancer*, 1 (1) , 34–45.
- Ferreira, C.G., Span, S.W., Peters, G.J., Kruyt, F.A.E., Giaccone, G. 2000. Chemotherapy Triggers Apoptosis in a Caspase-8-dependent and Mitochondria-controlled Manner in the Non-Small Cell Lung Cancer Cell Line NCI-H460. *Cancer Res*, 60 (24) , 7133–7141.
- Fiedler, M., Mendoza-Topaz, C., Rutherford, T.J., Mieszczanek, J., Bienz, M. 2011. Dishevelled interacts with the DIX domain polymerization interface of Axin to interfere with its function in down-regulating β -catenin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (5) , 1937–1942.
- Fitzpatrick, A.M., Teague, W.G., Holguin, F., Yeh, M., Brown, L.A.S. 2009. Airway glutathione homeostasis is altered in children with severe asthma: Evidence for oxidant stress. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123 (1) , 146-152.e8.
- Fodale, V., D'Arrigo, M.G., Triolo, S., Mondello, S., La Torre, D. 2014. Anesthetic Techniques and Cancer Recurrence after Surgery. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–10.
- Fruman, D.A., Meyers, R.E., Cantley, L.C. 1998. Phosphoinositide Kinases. *Annual Review of Biochemistry*, 67 (1) , 481–507.
- Ghoreschi, K., Laurence, A., O'Shea, J.J. 2009. Janus kinases in immune cell signaling. *Immunological Reviews*, 228 (1) , 273–287.
- Glinka, A., Wu, W., Delius, H., Monaghan, A.P., Blumenstock, C., Niehrs, C. 1998. Dickkopf-1 is a member of a new family of secreted proteins and functions in head induction. *Nature*, 391 (6665) , 357–362.
- Gong, X., Dan, J., Li, F., Wang, L. 2018. Suppression of mitochondrial respiration with local anesthetic ropivacaine targets breast cancer cells. *J Thorac Dis*, 10 (5) , 2804–2812.

- Gordon, M.D., Nusse, R. 2006. Wnt Signaling: Multiple Pathways, Multiple Receptors, and Multiple Transcription Factors. *Journal of Biological Chemistry*, 281 (32) , 22429–22433.
- Grandhi, R.K., Perona, B. 2019. Mechanisms of Action by Which Local Anesthetics Reduce Cancer Recurrence: A Systematic Review. *Pain Medicine*, 21 (2).
- Greenlee, R.T., Murray, T., Bolden, S., Wingo, P.A. 2000. Cancer statistics, 2000. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 50 (1) , 7–33.
- Griffin, J. E. Wilson, J. D. 1998. In *Williams Textbook of Endocrinology* 9th edn (eds Wilson, J. D., Foster, D. W., Kronenberg, H. M. & Larsen, P. R.) 819–876 (W. B. Saunders & Co., Philadelphia.).
- Guo, X.-G., Wang, S., Xu, Y.-B., Zhuang, J. 2015. Propofol suppresses invasion, angiogenesis and survival of EC-1 cells in vitro by regulation of S100A4 expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 19 (24) , 4858–4865.
- Gureasko, J., Galush, W.J., Boykevich, S., Sonderrmann, H., Bar-Sagi, D., Groves, J.T., Kuriyan, J. 2008. Membrane-dependent signal integration by the Ras activator Son of sevenless. *Nature Structural & Molecular Biology*, 15 (5) , 452–461.
- Guyton, K.Z., Kensler, T.W. 1993. Oxidative mechanisms in carcinogenesis. *Br Med Bull*, 49 (3), 523–544.
- Habiro, A., Tanno, S., Koizumi, K., Izawa, T., Nakano, Y., Osanai, M., Mizukami, Y., Okumura, T., Kohgo, Y. 2004. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase in gemcitabine-induced apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 316 (1) , 71–77. doi:10.1016/j.bbrc.2004.02.017
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 2015. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, No.Ed. 5 s, England.
- Hameroff, S. 1998. Anesthesia, consciousness and hydrophobic pockets—a unitary quantum hypothesis of anesthetic action. *Toxicology Letters*, 100–101, 31–39.
- Hanahan, D., Weinberg, R.A. 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144 (5) , 646–674.
- Hariharan, K., Padmanabha, V. 2016. Demography and disease characteristics of prostate cancer in India. *Indian J Urol*, 32 (2) , 103–108.
- Harris, S.L., Levine, A.J. 2005. The p53 pathway: positive and negative feedback loops. *Oncogene*, 24 (17) , 2899–2908.
- Harrison, D.A. 2012. The JAK/STAT Pathway. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4 (3) , a011205–a011205.

- Hartwell, L.H., Weinert, T.A. 1989. Checkpoints: controls that ensure the order of cell cycle events. *Science*, 246 (4930) , 629–634.
- Hay, N. 2004. Upstream and downstream of mTOR. *Genes & Development*, 8 (16) , 1926–1945.
- Heinemann, V., Xu, Y.-Z., Chubb, S., Sen, A., Hertel, L.W., Grindey, G.B., Plunkett, W. 1992. Cellular Elimination of 2',2'-Difluorodeoxycytidine 5'-Triphosphate: A Mechanism of Self-Potentiation. *Cancer Res*, 52 (3) , 533–539.
- Heinlein, C.A., Chang, C. 2004. Androgen Receptor in Prostate Cancer. *Endocrine Reviews*, 25 (2) , 276–308.
- Hengartner, M.O. 2001. Apoptosis: Corraling the Corpses. *Cell*, 104 (3) , 325–328.
- Hsieh, A., Edlind, M. 2014. PI3K-AKT-mTOR signaling in prostate cancer progression and androgen deprivation therapy resistance. *Asian Journal of Andrology*, 16 (3), 378.
- Hsu, S.-S., Jan, C.-R., Liang, W.-Z. 2017. Evaluation of cytotoxicity of propofol and its related mechanism in glioblastoma cells and astrocytes. *Environmental Toxicology*, 32 (12), 2440–2454.
- Huang, P., Chubb, S., Hertel, L.W., Grindey, G.B., Plunkett, W. 1991. Action of 2',2'-difluorodeoxycytidine on DNA synthesis. *Cancer Res*, 51 (22) , 6110–6117.
- Hurmuth, F.K., Mittal, M., Ramaswamy, P., Umamaheswara Rao, G.S., Dalavaikodihalli Nanjaiah, N. 2016. Sevoflurane and thiopental preconditioning attenuates the migration and activity of MMP-2 in U87MG glioma cells. *Neurochem. Int.*, 94, 32–38.
- İçli, F. Akbulut, H. 2005. Onkolojiye Giriş. İn.iliçin, G., Biberoğlu, K., Süleymanlar, G. et al.; eds. İç Hastalıkları. Güneş Kitabevi; 2007-2014
- Jenner, P. 2003. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neurol.*, 53 (S3) , S26–S38.
- Jiang, Y., Gou, H., Zhu, J., Tian, S., Yu, L. 2016. Lidocaine inhibits the invasion and migration of TRPV6-expressing cancer cells by TRPV6 downregulation. *Oncology Letters*, 12 (2) , 1164–1170.
- Jurić, T., Katanić Stanković, J.S., Rosić, G., Selaković, D., Joksimović, J., Mišić, D., Stanković, V., Mihailović, V. 2020. Protective effects of *Alchemilla vulgaris* L. extracts against cisplatin-induced toxicological alterations in rats. *South African Journal of Botany* 128, 141–151.
- Kabakov, A.E., Gabai, V.L. 2018. Cell Death and Survival Assays, in: Calderwood, S.K., Prince, T.L. (Eds.), *Chaperones, Methods in Molecular Biology*. Springer New York, 107–12, New York.

- Kašparová, S., Brezová, V., Valko, M., Horecký, J., Mlynárik, V., Liptaj, T., Vančová, O., Uličná, O., Dobrota, D. 2005. Study of the oxidative stress in a rat model of chronic brain hypoperfusion. *Neurochemistry International*, 46 (8) , 601–611.
- Kerr, S., Brosnan, M.J., McIntyre, M., Reid, J.L., Dominiczak, A.F., Hamilton, C.A. 1999. Superoxide Anion Production Is Increased in a Model of Genetic Hypertension: Role of the Endothelium. *Hypertension*, 33 (6) , 1353–1358.
- Khandrika, L., Kumar, B., Koul, S., Maroni, P., Koul, H.K. 2009. Oxidative stress in prostate cancer. *Cancer Letters*, 282 (2) , 125–136.
- Kim, E.K., Choi, E.-J. 2015. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update. *Archives of Toxicology*, 89 (6) , 867–882.
- Kisseleva, T., Bhattacharya, S., Braunstein, J., Schindler, C.W. 2002. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene*, 285 (1–2), 1–24.
- Klaunig, J. E., Xu, Y., Isenberg, J. S., Bachowski, S., Kolaja, K.L., Jiang, J., Stevenson, D.E., Walborg, E.F. 1998. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 106 (suppl 1) , 289–295.
- Klein, K. A., Reiter, R. E., Redula, J., Moradi, H., Zhu, X. L., Brothman, A. R., Lamb, D. J., Marcelli, M., Belldgrun, A., Witte, O. N., & Sawyers, C. L. 1997. Progression of metastatic human prostate cancer to androgen independence in immunodeficient SCID mice. *Nature Medicine*, 3(4), 402–408.
- Koltai, T. 2015. Voltage-gated sodium channel as a target for metastatic risk reduction with re-purposed drugs. *F1000Res* 4, 297.
- Korinek, V. 1997. Constitutive Transcriptional Activation by a beta -Catenin-Tcf Complex in APC-/- Colon Carcinoma. *Science*, 275 (5307) , 1784–1787.
- Kukreja, R.C., Hess, M.L. 1992. The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovascular Research*, 26 (7) , 641–655.
- Kumar, P., Nagarajan, A., Uchil, P.D. 2018. Analysis of Cell Viability by the Lactate Dehydrogenase Assay. *Cold Spring Harb Protoc*, 2018 (6) .
- Kummer, J.L., Rao, P.K., Heidenreich, K.A. 1997. Apoptosis Induced by Withdrawal of Trophic Factors Is Mediated by p38 Mitogen-activated Protein Kinase. *J. Biol. Chem.*, 272 (33) , 20490–20494.
- Kvolik, S., Glavas-Obrovac, L., Bares, V., Karner, I. 2005. Effects of inhalation anesthetics halothane, sevoflurane, and isoflurane on human cell lines. *Life Sciences*, 77 (19), 2369–2383.

- Lake, D., Corrêa, S.A.L., Müller, J. 2016. Negative feedback regulation of the ERK1/2 MAPK pathway. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73 (23) , 4397–4413.
- Langley, M.S., Heel, R.C. 1988. Propofol. *Drugs*, 35 (4) , 334–372.
- Lavery, H.J., Cooperberg, M.R. 2017. Clinically localized prostate cancer in 2017: A review of comparative effectiveness. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 35 (2) , 40–41.
- Lavoie, H., Therrien, M. 2015. Regulation of RAF protein kinases in ERK signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 16 (5) , 281–298.
- Lee, C.H., Akin-Olugbade, O., Kirschenbaum, A. 2011. Overview of Prostate Anatomy, Histology, and Pathology. *Endocrinology and Metabolism Clinics*, 40 (3) , 565–575.
- Lee, J., Ishihara, A., Oxford, G., Johnson, B., Jacobson, K. 1999. Regulation of cell movement is mediated by stretch-activated calcium channels. *Nature*, 400 (6742) , 382–386.
- Le, A., Cooper, C.R., Gouw, A.M., Dinavahi, R., Maitra, A., Deck, L.M., Royer, R.E., Vander Jagt, D.L., Semenza, G.L., Dang, C.V. 2010. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107 (5) , 2037–2042.
- Lei, X.G., Zhu, J.-H., Cheng, W.-H., Bao, Y., Ho, Y.-S., Reddi, A.R., Holmgren, A., Arnér, E.S.J. 2016. Paradoxical Roles of Antioxidant Enzymes: Basic Mechanisms and Health Implications. *Physiological Reviews*, 96 (1) , 307–364.
- Li, Q., Zhang, L., Han, Y., Jiang, Z., Wang, Q. 2012. Propofol reduces MMPs expression by inhibiting NF- κ B activity in human MDA-MB-231 cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 66 (1) , 52–56.
- Liang B, Dong T. 2020. Effects of propofol on invasion and migration of colon cancer cells and JAK2/STAT3 signaling pathway. 丙泊酚对结肠癌细胞侵袭迁移及Janus激酶2/信号转导与转录激活子3信号通路的影响. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.*, 45 (3), 290-296.
- Lien, E.C., Lyssiotis, C.A., Cantley, L.C. 2016. Metabolic Reprogramming by the PI3K-Akt-mTOR Pathway in Cancer, in: Cramer, T., A. Schmitt, C. (Eds.), *Metabolism in Cancer*. Springer International Publishing, Cham, pp. 39–72.
- Lin, L., Liu, C., Tan, H., Ouyang, H., Zhang, Y., Zeng, W. 2011. Anaesthetic technique may affect prognosis for ovarian serous adenocarcinoma: a retrospective analysis. *Br J Anaesth*, 106 (6) , 814–822.
- Liu, X., Zhang, C., Zhang, Zhonghua, Zhang, Zuping, Ji, W., Cao, S., Cai, X., Lei, D., Pan, X. 2017. E26 Transformation-Specific Transcription Factor ETS2 as an

Oncogene Promotes the Progression of Hypopharyngeal Cancer. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 32 (9), 327–334.

Liu, Z., Zhang, J., Hong, G., Quan, J., Zhang, L., Yu, M. 2016. Propofol inhibits growth and invasion of pancreatic cancer cells through regulation of the miR-21/Slug signaling pathway. *Am J Transl Res*, 8 (10) , 4120–4133.

Logan, C.Y., Nusse, R. 2004. THE WNT SIGNALING PATHWAY IN DEVELOPMENT AND DISEASE. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 20 (1) , 781–810.

Lu, M., Wang, Y., Zhan, X. 2019. The MAPK Pathway-Based Drug Therapeutic Targets in Pituitary Adenomas. *Frontiers in Endocrinology*, 131-140, Japan.

Lundström, S., Zachrisson, U., Fürst, C.J. 2005. When Nothing Helps: Propofol as Sedative and Antiemetic in Palliative Cancer Care. *Journal of Pain and Symptom Management*, 30 (6) , 570–577.

Major, M.B., Camp, N.D., Berndt, J.D., Yi, X., Goldenberg, S.J., Hubbert, C., Biechele, T.L., Gingras, A.-C., Zheng, N., MacCoss, M.J., Angers, S., Moon, R.T. 2007. Wilms Tumor Suppressor WTX Negatively Regulates WNT/ -Catenin Signaling. *Science*, 316 (5827) , 1043–1046.

Malmstrom, P.-U., Rintala, E., Wahlqvist, R., Hellstrom, P., Hellsten, S., Hannisdal, E. 1996. Five-year Followup of a Prospective Trial of Radical Cystectomy and Neoadjuvant Chemotherapy: Nordic Cystectomy Trial 1. *Journal of Urology*, 155 (6) , 1903–1906.

Malumbres, M., Barbacid, M. 2006. Is Cyclin D1-CDK4 kinase a bona fide cancer target? *Cancer Cell*, 9 (1) , 2–4.

Mao, B., Wu, W., Davidson, G., Marhold, J., Li, M., Mechler, B.M., Delius, H., Hoppe, D., Stannek, P., Walter, C., Glinka, A., Niehrs, C. 2002. Kremen proteins are Dickkopf receptors that regulate Wnt/ β -catenin signalling. *Nature*, 417 (6889) , 664–667.

Mao, J., Wang, J., Liu, B., Pan, W., Farr, G.H., Flynn, C., Yuan, H., Takada, S., Kimelman, D., Li, L., Wu, D. 2001. Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein-5 Binds to Axin and Regulates the Canonical Wnt Signaling Pathway. *Molecular Cell*, 7 (4), 801–809.

Marik, P. 2004. Propofol: Therapeutic Indications and Side-Effects. *CPD*, 10 (29) , 3639–3649.

Markowski, M.C., Carducci, M.A. 2017. Early use of chemotherapy in metastatic prostate cancer. *Cancer Treatment Reviews*, 55, 218–224.

- Marnett, L.J. 1999. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 424 (1–2) , 83–95.
- Mays, N. 2011. Reducing unwarranted variations in healthcare in the English NHS. *BMJ*, 342 (mar22 5), d1849–d1849.
- Mercadante, S., De Conno, F., Ripamonti, C. 1995. Propofol in terminal care. *Journal of Pain and Symptom Management*, 10 (8) , 639–642.
- Miao, Y., Zhang, Y., Wan, H., Chen, L., Wang, F. 2010. GABA-receptor agonist, propofol inhibits invasion of colon carcinoma cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 64 (9), 583–588.
- Moscatelli, D., Rifkin, D.B. 1988. Membrane and matrix localization of proteinases: a common theme in tumor cell invasion and angiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*, 948 (1) , 67–85.
- Murray, P.J. 2007. The JAK-STAT Signaling Pathway: Input and Output Integration. *The Journal of Immunology*, 178 (5) , 2623–2629.
- Musacchio, A., Salmon, E.D. 2007. The spindle-assembly checkpoint in space and time. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 8 (5) , 379–393.
- Nazir, B. 2014. Pain during Transrectal Ultrasound-Guided Prostate Biopsy and the Role of Periprostatic Nerve Block: What Radiologists Should Know. *Korean J Radiol*, 15 (5) , 543.
- Neeman, E., Ben-Eliyahu, S. 2013. Surgery and stress promote cancer metastasis: New outlooks on perioperative mediating mechanisms and immune involvement. *Brain, Behavior, and Immunity*, 30, S32–S40.
- Nigg, E.A. 2001. Mitotic kinases as regulators of cell division and its checkpoints. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2 (1) , 21–32.
- Nishisho, I., Nakamura, Y., Miyoshi, Y., Miki, Y., Ando, H., Horii, A., Koyama, K., Utsunomiya, J., Baba, S., Hedge, P. 1991. Mutations of chromosome 5q21 genes in FAP and colorectal cancer patients. *Science*, 253 (5020) , 665–669.
- Osaki, M., Oshimura, M., Ito, H. 2004. PI3K-Akt pathway: Its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis*, 9 (6) , 667–676.
- Pauwels, B., Korst, A.E.C., Pattyn, G.G.O., Lambrechts, H.A.J., Van Bockstaele, D.R., Vermeulen, K., Lenjou, M., de Pooter, C.M.J., Vermorken, J.B., Lardon, F. 2003. Cell cycle effect of gemcitabine and its role in the radiosensitizing mechanism in vitro. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 57 (4) , 1075–1083.
- Pearson, H.B., Li, J., Meniel, V.S., Fennell, C.M., Waring, P., Montgomery, K.G., Rebello, R.J., Macpherson, A.A., Koushyar, S., Furic, L., Cullinane, C., Clarkson,

- R.W., Smalley, M.J., Simpson, K.J., Phesse, T.J., Shepherd, P.R., Humbert, P.O., Sansom, O.J., Phillips, W.A. 2018. Identification of *Pik3ca* Mutation as a Genetic Driver of Prostate Cancer That Cooperates with *Pten* Loss to Accelerate Progression and Castration-Resistant Growth. *Cancer Discovery*, 8 (6) , 764–779.
- Pernar, C.H., Ebot, E.M., Wilson, K.M., Mucci, L.A. 2018. The Epidemiology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 8 (12) , a030361.
- Philp, A.J., Campbell, I.G., Leet, C., Vincan, E., Rockman, S.P., Whitehead, R.H., Thomas, R.J.S., Phillips, W.A. 2001. The Phosphatidylinositol 3'-kinase p85 α Gene Is an Oncogene in Human Ovarian and Colon Tumors. *Cancer Res*, 61 (20), 7426–7429.
- Piegeler, T., Votta-Velis, E.G., Liu, G., Place, A.T., Schwartz, D.E., Beck-Schimmer, B., Minshall, R.D., Borgeat, A. 2012. Antimetastatic Potential of Amide-linked Local Anesthetics: Inhibition of Lung Adenocarcinoma Cell Migration and Inflammatory Src Signaling Independent of Sodium Channel Blockade. *Anesthesiology*, 117 (3) , 548–559.
- Pinson, K.I., Brennan, J., Monkley, S., Avery, B.J., Skarnes, W.C. 2000. An LDL-receptor-related protein mediates Wnt signalling in mice. *Nature*, 407 (6803) , 535–538.
- Planas-Silva, M.D., Weinberg, R.A. 1997. The restriction point and control of cell proliferation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9 (6) , 768–772.
- Plunkett, W., Huang, P., Xu, Y.Z., Heinemann, V., Grunewald, R., Gandhi, V. 1995. Gemcitabine: metabolism, mechanisms of action, and self-potential. *Semin. Oncol.*, 22 (4 Suppl 11) , 3–10.
- Porta, C., Paglino, C., Mosca, A. 2014. Targeting PI3K/Akt/mTOR Signaling in Cancer. *Frontiers in Oncology*, 4, 1-11.
- Prostate Cancer Treatment (PDQ®)–Patient Version, 2019. Web Sites: <https://www.cancer.gov/types/prostate/patient/prostate-treatment-pdq>, Erişim Tarihi: 12.15.19.
- Raventós, J. 1956. The action of fluothane—a new volatile anaesthetic. *Br J Pharmacol Chemother*, 11 (4), 394–410.
- Rawlings, J.S. 2004. The JAK/STAT signaling pathway. *Journal of Cell Science*, 117 (8), 1281–1283.
- Ringel, M.D., Hayre, N., Saito, J., Saunier, B., Schuppert, F., Burch, H., Bernet, V., Burman, K.D., Kohn, L.D., Saji, M. 2001. Overexpression and Overactivation of Akt in Thyroid Carcinoma. *Cancer Res*, 61 (16) , 6105–6111.
- Risau, W. 1993. Development of the Vascular System of Organs and Tissues, in: Schaper, W., Schaper, J. (Eds.), *Collateral Circulation: Heart, Brain, Kidney, Limbs*. Springer US, Boston, MA, 17–28, Boston.

- Rizzuto, I., Ghazaly, E., Peters, G.J. 2017. Pharmacological factors affecting accumulation of gemcitabine's active metabolite, gemcitabine triphosphate. *Pharmacogenomics*, 18 (9) , 911–925.
- Robinson, D., Van Allen, E.M., Wu, Y.-M., Schultz, N., Lonigro, R.J., Mosquera, J.-M., Montgomery, B., Taplin, M.-E., Pritchard, C.C., Attard, G., Beltran, H., Abida, W., Bradley, R.K., Vinson, J., Cao, X., Vats, P., Kunju, L.P., Hussain, M., Feng, F.Y., Tomlins, S.A., Cooney, K.A., Smith, D.C., Brennan, C., Siddiqui, J., Mehra, R., Chen, Y., Rathkopf, D.E., Morris, M.J., Solomon, S.B., Durack, J.C., Reuter, V.E., Gopalan, A., Gao, J., Loda, M., Lis, R.T., Bowden, M., Balk, S.P., Gaviola, G., Sougnez, C., Gupta, M., Yu, E.Y., Mostaghel, E.A., Cheng, H.H., Mulcahy, H., True, L.D., Plymate, S.R., Dvinge, H., Ferraldeschi, R., Flohr, P., Miranda, S., Zafeiriou, Z., Tunariu, N., Mateo, J., Perez-Lopez, R., Demichelis, F., Robinson, B.D., Schiffman, M., Nanus, D.M., Tagawa, S.T., Sigaras, A., Eng, K.W., Elemento, O., Sboner, A., Heath, E.I., Scher, H.I., Pienta, K.J., Kantoff, P., de Bono, J.S., Rubin, M.A., Nelson, P.S., Garraway, L.A., Sawyers, C.L., Chinnaiyan, A.M. 2015. Integrative Clinical Genomics of Advanced Prostate Cancer. *Cell*, 161 (5) , 1215–1228.
- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B. 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49 (11) , 1603–1616.
- Rojas, V., Hirshfield, K., Ganesan, S., Rodriguez-Rodriguez, L. 2016. Molecular Characterization of Epithelial Ovarian Cancer: Implications for Diagnosis and Treatment. *IJMS*, 17 (12) , 2113.
- Robinson, M.J., Cobb, M.H. 1997. Mitogen-activated protein kinase pathways. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9 (2) , 180–186.
- Saito, M., Okamoto, A., Kohno, T., Takakura, S., Shinozaki, H., Isonishi, S., Yasuhara, T., Yoshimura, T., Ohtake, Y., Ochiai, K., Yokota, J., Tanaka, T. 2000. Allelic imbalance and mutations of the PTEN gene in ovarian cancer. *International Journal of Cancer*, 85 (2) , 160–165.
- Satoh, S., Daigo, Y., Furukawa, Y., Kato, T., Miwa, N., Nishiwaki, T., Kawasoe, T., Ishiguro, H., Fujita, M., Tokino, T., Sasaki, Y., Imaoka, S., Murata, M., Shimano, T., Yamaoka, Y., Nakamura, Y. 2000. AXIN1 mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of AXIN1. *Nature Genetics*, 24 (3) , 245–250.
- Sayre, L., Smith, M., Perry, G. 2001. Chemistry and Biochemistry of Oxidative Stress in Neurodegenerative Disease. *CMC*, 8 (7) , 721–738.
- Schlagenhauff, B., Ellwanger, U., Breuninger, H., Stroebel, W., Rassner, G., Garbe, C. 2000. Prognostic impact of the type of anaesthesia used during the excision of primary cutaneous melanoma. *Melanoma Res.*, 10 (2) , 165–169.

- Shang, Z., Feng, H., Cui, L., Wang, W., Fu, H. 2017. Propofol promotes apoptosis and suppresses the HOTAIR-mediated mTOR/p70S6K signaling pathway in melanoma cells. *Oncol Lett.*, 15 (1), 630-634.
- Shaw, R.J., Bardeesy, N., Manning, B.D., Lopez, L., Kosmatka, M., DePinho, R.A., Cantley, L.C. 2004. The LKB1 tumor suppressor negatively regulates mTOR signaling. *Cancer Cell*, 6 (1) , 91–99.
- Shayesteh, L., Lu, Y., Kuo, W.-L., Baldocchi, R., Godfrey, T., Collins, C., Pinkel, D., Powell, B., Mills, G.B., Gray, J.W. 1999. PIK3CA is implicated as an oncogene in ovarian cancer. *Nature Genetics*, 21 (1) , 99.
- Siegel, R.L., Miller, K.D., Jemal, A. 2020. Cancer statistics, 2020. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 70 (1) , 7–30.
- Siems, W.G., Grune, T., Esterbauer, H. 1995. 4-Hydroxynonenal formation during ischemia and reperfusion of rat small intestine. *Life Sciences*, 57 (8) , 785–789.
- Song, J., Song, Y., Guo, W., Jia, J., Jin, Y., Bai, A. 2014. Regulatory roles of KDR antisense oligonucleotide on the proliferation of human prostate cancer cell line PC-3. *J BUON*, 19 (3) , 770–774.
- Stadtman, E.R. 2004. Role of Oxidant Species in Aging. *Current Medicinal Chemistry*, 11 (9) , 1105–1112.
- Steinberg, J.L., Yeo, W., Zhong, S., Chan, J.Y.H., Tam, J.S., Chan, P.K.S., Leung, N.W.Y., Johnson, P.J. 2000. Hepatitis B virus reactivation in patients undergoing cytotoxic chemotherapy for solid tumours: Precore/core mutations may play an important role. *Journal of Medical Virology*, 60 (3) , 249–255.
- Stetler-Stevenson, W.G., Yu, A.E. 2001. Proteases in invasion: matrix metalloproteinases. *Seminars in Cancer Biology*, 11 (2) , 143–152.
- Subramaniam, P.S., Torres, B.A., Johnson, H.M. 2001. So many ligands, so few transcription factors: a new paradigm for signaling through the stat transcription factors. *Cytokine*, 15 (4) , 175–187.
- Sun, M., Wang, G., Paciga, J.E., Feldman, R.I., Yuan, Z.-Q., Ma, X.-L., Shelley, S.A., Jove, R., Tschlis, P.N., Nicosia, S.V., Cheng, J.Q. 2001. AKT1/PKB α Kinase Is Frequently Elevated in Human Cancers and Its Constitutive Activation Is Required for Oncogenic Transformation in NIH3T3 Cells. *The American Journal of Pathology*, 159 (2) , 431–437.
- Takada, R., Satomi, Y., Kurata, T., Ueno, N., Norioka, S., Kondoh, H., Takao, T., Takada, S. 2006. Monounsaturated Fatty Acid Modification of Wnt Protein: Its Role in Wnt Secretion. *Developmental Cell*, 11 (6) , 791–801.

- Tamai, K., Semenov, M., Kato, Y., Spokony, R., Liu, C., Katsuyama, Y., Hess, F., Saint-Jeannet, J.-P., He, X. 2000. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature*, 407 (6803) , 530–535.
- Teng, D.H.-F., Hu, R., Lin, H., Davis, T., Iliev, D., Frye, C., Swedlund, B., Hansen, K.L., Vinson, V.L., Gumpfer, K.L., Ellis, L., El-Naggar, A., Frazier, M., Jasser, S., Langford, L.A., Lee, J., Mills, G.B., Pershouse, M.A., Pollack, R.E., Tornos, C., Troncoso, P., Yung, W.K.A., Fujii, G., Berson, A., Bookstein, R., Bolen, J.B., Tavtigian, S.V., Steck, P.A. 1997. MMAC1/PTEN Mutations in Primary Tumor Specimens and Tumor Cell Lines. *Cancer Res*, 57 (23) , 5221–5225.
- ter Haar, E., Coll, J.T., Austen, D.A., Hsiao, H.-M., Swenson, L., Jain, J. 2001. Structure of GSK3 β reveals a primed phosphorylation mechanism. *Nature Structural Biology*, 8 (7) , 593–596.
- Toren, P., Zoubeydi, A. 2014. Targeting the PI3K/Akt pathway in prostate cancer: Challenges and opportunities (Review). *International Journal of Oncology*, 45 (5) , 1793–1801.
- Torre, L.A., Bray, F., Siegel, R.L., Ferlay, J., Lortet-Tieulent, J., Jemal, A. 2015. Global cancer statistics, 2012: Global Cancer Statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 65 (2) , 87–108.
- Toshniwal, P.K., Zarling, E.J. 1992. Evidence for increased lipid peroxidation in multiple sclerosis. *Neurochem Res*, 17 (2) , 205–207.
- Tsuchiya, M., Asada, A., Arita, K., Utsumi, T., Yoshida, T., Sato, E.F., Utsumi, K., Inoue, M. 2002. Induction and mechanism of apoptotic cell death by propofol in HL-60 cells. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 46 (9) , 1068–1074.
- Ungureanu, D., Wu, J., Pekkala, T., Niranjana, Y., Young, C., Jensen, O.N., Xu, C.-F., Neubert, T.A., Skoda, R.C., Hubbard, S.R., Silvennoinen, O. 2011. The pseudokinase domain of JAK2 is a dual-specificity protein kinase that negatively regulates cytokine signaling. *Nature Structural & Molecular Biology*, 18 (9) , 971–976.
- Urman, R.D., Desai, S.P. 2012. History of anesthesia for ambulatory surgery: Current Opinion in Anaesthesiology, 1.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160 (1) , 1–40.
- Villar-Garea, A., Fraga, M.F., Espada, J., Esteller, M. 2003. Procaine Is a DNA-demethylating Agent with Growth-inhibitory Effects in Human Cancer Cells. *Cancer Res*, 63 (16) , 4984–4989.
- Villarino, A.V., Kanno, Y., Ferdinand, J.R., O'Shea, J.J. 2015. Mechanisms of Jak/STAT Signaling in Immunity and Disease. *The Journal of Immunology*, 194 (1) , 21–27.

- Vivanco, I., Sawyers, C.L. 2002. The phosphatidylinositol 3-Kinase–AKT pathway in human cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2 (7) , 489.
- Vogelstein, B., Lane, D., Levine, A.J. 2000. Surfing the p53 network. *Nature*, 408 (6810) , 307–310.
- Wada, H., Seki, S., Takahashi, T., Kawarabayashi, N., Higuchi, H., Habu, Y., Sugahara, S., Kazama, T. 2007. Combined Spinal and General Anesthesia Attenuates Liver Metastasis by Preserving Th1/Th2 Cytokine Balance. *Anesthes*, 106 (3) , 499–506.
- Wang, J., Yi, J. 2008. Cancer cell killing via ROS: To increase or decrease, that is the question. *Cancer Biology & Therapy*, 7 (12) , 1875–1884.
- Wang, H.-L., Yan, H.-D., Liu, Y.-Y., Sun, B.-Z., Huang, R., Wang, X.-S., Lei, W.-F. 2015. Intraoperative intravenous lidocaine exerts a protective effect on cell-mediated immunity in patients undergoing radical hysterectomy. *Mol Med Rep*, 12 (5) , 7039–7044.
- Wang, H.-W., Wang, L.-Y., Jiang, L., Tian, S.-M., Zhong, T.-D., Fang, X.-M. 2016. Amide-linked local anesthetics induce apoptosis in human non-small cell lung cancer. *Journal of Thoracic Disease*, 8 (10) , 2748–2757.
- Wang, M., Dhingra, K., Hittelman, W.N., Liehr, J.G., de Andrade, M., Li, D. 1996. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde-DNA adducts in human breast tissues. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 5 (9) , 705–710.
- Wang, S.I., Puc, J., Li, J., Bruce, J.N., Cairns, P., Sidransky, D., Parsons, R. 1997. Somatic Mutations of PTEN in Glioblastoma Multiforme. *Cancer Res*, 57 (19) , 4183–4186.
- Wang, Z., Luo, G., Qiu, Z. 2020. Akt inhibitor MK-2206 reduces pancreatic cancer cell viability and increases the efficacy of gemcitabine. *Oncology Letters*, 19 (3), 1999–2004.
- Wehrli, M., Dougan, S.T., Caldwell, K., O’Keefe, L., Schwartz, S., Vaizel-Ohayon, D., Schejter, E., Tomlinson, A., DiNardo, S. 2000. arrow encodes an LDL-receptor-related protein essential for Wingless signalling. *Nature*, 407 (6803) , 527–530.
- WHO | Cancer country profiles. 2020. Web Sitesi: <http://www.who.int/cancer/country-profiles/en/> Erişim Tarihi: 5.18.20.
- Williams, G.H., Stoeber, K. 2012. The cell cycle and cancer. *The Journal of Pathology*, 226 (2) , 352–364.
- Wong, R.S. 2011. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 30 (1) , 87.
- Wood, B. 2011. *Wiley-Blackwell Encyclopedia of Human Evolution*. John Wiley & Sons.

- Xing, S.-G., Zhang, K.-J., Qu, J.-H., Ren, Y.-D., Luan, Q. 2018. Propofol induces apoptosis of non-small cell lung cancer cells via ERK1/2-dependent upregulation of PUMA. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 22 (13) , 4341–4349.
- Xing, W., Chen, D.-T., Pan, J.-H., Chen, Y.-H., Yan, Y., Li, Q., Xue, R.-F., Yuan, Y.-F., Zeng, W.-A. 2017. Lidocaine Induces Apoptosis and Suppresses Tumor Growth in Human Hepatocellular Carcinoma Cells In Vitro and in a Xenograft Model In Vivo. *Anesthes*, 126 (5) , 868–881.
- Xu, Y.-B., Jiang, W., Zhao, F.-R., Li, G., Du, Q.-H., Zhang, M.-Y., Guo, X.-G. 2016. Propofol suppresses invasion and induces apoptosis of osteosarcoma cell in vitro via downregulation of TGF- β 1 expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 20 (7) , 1430–1435.
- Xu, W., Zheng, J., Bie, S., Kang, L., Mao, Q., Liu, W., Guo, J., Lu, J., Xia, R. 2018. Propofol inhibits Wnt signaling and exerts anticancer activity in glioma cells. *Oncol Lett.*, 16 (1), 402-408.
- Xuan, W., Zhao, H., Hankin, J., Chen, L., Yao, S., Ma, D. 2016. Local anesthetic bupivacaine induced ovarian and prostate cancer apoptotic cell death and underlying mechanisms in vitro. *Sci Rep*, 6, 26277.
- Xu, X., Wu, G., Liu, Y., Zhang, L. 2020. Effects of propofol on hippocampal neuron viability. *Childs Nerv Syst*.
- Yamamoto, A., Nagano, T., Takehara, S., Hibi, M., Aizawa, S. 2005. Shisa Promotes Head Formation through the Inhibition of Receptor Protein Maturation for the Caudalizing Factors, Wnt and FGF. *Cell*, 120 (2) , 223–235.
- Yang, J., Nie, J., Ma, X., Wei, Y., Peng, Y., Wei, X. 2019. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials. *Molecular Cancer* 18 (1), 26.
- Yang, W., Cai, J., Zabkiewicz, C., Zhang, H., Ruge, F., Jiang, W.G. 2017. The Effects of Anesthetics on Recurrence and Metastasis of Cancer, and Clinical Implications. *World Journal of Oncology*, 8 (3) , 63–70.
- Yoon, S., Seger, R. 2006. The extracellular signal-regulated kinase: Multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors*, 24 (1) , 21–44.
- Yu, H., Pardoll, D., Jove, R. 2009. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3. *Nature Reviews Cancer*, 9 (11) , 798–809.
- Zetterberg, A., Larsson, O. 1985. Kinetic analysis of regulatory events in G1 leading to proliferation or quiescence of Swiss 3T3 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 82 (16) , 5365–5369.

Zhang, Y., Yuan, Y., Zhang, X., Huang, D., Wei, Y., & Yang, J. 2017. HMGB1-mediated autophagy confers resistance to gemcitabine in hormone-independent prostate cancer cells. *Oncology Letters*, 14 (5) , 6285-6290.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Kübra Nur BAYINDIRLI
Uyruğu : TC
Doğum Tarihi ve Yeri : 01.02.1995 Uzundere/Erzurum
Medeni Hali : Bekâr
Telefon : +90 507 548 23 15
e-mail : kubranurbayindirli@gmail.com

Eğitim

Derece	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Erzurum Teknik Üniversitesi	2020
Lisans	Atatürk Üniversitesi	2017
Lise	Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi	2013

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

EcoTech Biotechnology Şirketi, 2020

Yayınlar (SCI, SCI-Expanded)

Hakemli Dergiler

Ulusal Kongre Sunum

Uluslararası Kongre Sunum

International Symposium on Applied Sciences and Engineering (ISASE2018) 26-28/11/2018.