



**BAKIR (II) METAL-KARIŞIK LİGAND KOMPLEKSİNİN [CU
(5-NİTRO-1-10-FENANTROLİN) (L-ASPARAJİN)] ClO₄]_n
SİTOTOKSİK VE DNA HASAR ETKİLERİNİN ÇEŞİTLİ
HÜCRE HATLARINDA İN VİTRO BELİRLENMESİ**

NEYLAN ORAL



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAKIR (II) METAL-KARIŞIK LİGAND KOMPLEKSİNİN [CU (5-NİTRO-
1-10-FENANTROLİN) (L-ASPARAJİN)] ClO₄ N SİTOTOKSİK VE DNA
HASAR ETKİLERİNİN ÇEŞİTLİ HÜCRE HATLARINDA İN VİTRO
BELİRLENMESİ**

NEYLAN ORAL

Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA-2016
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Neylan ORAL tarafından hazırlanan “Bakır (II) metal-karışık ligand kompleksinin [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin) (L-asparajin)] ClO₄n sitotoksik ve DNA hasar etkilerinin çeşitli hücre hatlarında in vitro belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ

Başkan : Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ
İmza

Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Tolga ÇAVAŞ
İmza

Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Gökçe TANER
İmza

Bursa Teknik Üniversitesi Doğa Bilimleri, Mimarlık ve
Mühendislik Fakültesi
Biyomühendislik Bölümü

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ali Osman DEMİR
Enstitü Müdürü

17.10.2016

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

2016

NEYLAN ORAL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAKIR (II) METAL-KARIŞIK LİGAND KOMPLEKSİNİN [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin) (L-asparajin)] ClO₄)_n SİTOTOKSİK VE DNA HASAR ETKİLERİNİN ÇEŞİTLİ HÜCRE HATLARINDA IN VİTRO BELİRLENMESİ

Neylan ORAL

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ

Bu çalışmada hazır besiyerinde (RPMI medium + Fetal Bovine Serum + L-glutamin + Sodyum pirüvat + Penisilin-Streptomisin) çözünen yeni sentezlenmiş polimerik yapılı bir bakır kompleksinin [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin) (L-asparajin)] ClO₄)_n, A549 insan akciğer kanseri hücre hattı, Beas-2B insan sağlıklı bronş epitel hücre hattı, MCF7 insan meme kanseri hücre hattı ve Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattında sitotoksik etkisi XTT testi ile incelenmiştir. Bu testte hücre hatları 0,1'den 25.6 µM arasında değişen konsantrasyonlarda bakır kompleksi ile 24 saat muamele edilip sonucunda yüzde canlılık eğrisi elde edilerek IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri bulunmuştur. Hücrelerin canlılığını sonlandıran mekanizmayı aydınlatmak için ise bir genotoksisite testi olan komet testinden yararlanılmıştır. Hücre hatlarının ortalama kuyruk uzunluğu, kuyruk %DNA ve Olive kuyruk momenti ölçümleri değerlendirilmiştir. Hücre içi ROS düzeyleri DCF-DA maddesi ile yapılan ROS testi ile ölçülmüştür. XTT testi sonuçları, düşük dozlarla muamele görmüş hücrelere oranla yüksek dozlarla muamele görmüş hücrelerin yüzde canlılık değerinin düştüğünü göstermiştir. Komet testi sonuçları, bu bakır kompleksine maruz kalan hücrelerde DNA fragmentasyonu gerçekleştiğini göstermiştir, ROS testi ise bu fragmentasyonların oksidatif hasar sebebiyle oluştuğuna işaret etmiştir. Sonuçlar bu bakır kompleksinin Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı ve MCF7 insan meme kanseri hücre hattı üzerinde daha etkili olduğunu göstermiştir.

Tüm metaller arasında bakırın her canlı organizmanın fizyolojisi ve biyokimyasında merkezi rol oynaması, kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan cisplatinin yapısındaki platin metalinin aksine endojen bir metal olması, bu sebeple daha az toksik yan etki göstermesi ve nükleik asit kırabilme yeteneğiyle DNA'da hasar yaratması kanser tedavisinde onu başarılı bir alternatif haline getirmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakır (II) karışık ligand kompleksleri, antikanser etki, XTT testi, ROS testi, komet testi.

2016, x + 74 sayfa

ABSTRACT

MSc Thesis

IN VITRO DETERMINATION OF THE CYTOTOXIC AND DNA DAMAGE EFFECTS OF COPPER MIXED METAL-LIGAND COMPLEX [CU (5-NITRO-1-10-PHENANTHROLINE)(L-ASPARAGINE)] ClO₄ⁿ IN VARIOUS CELL LINES

Neylan ORAL

Uludag University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ

In this study cytotoxic effect of the newly synthesized copper complex [Cu (5-nitro -1-10 - phenanthroline)(L- asparagine)] ClO₄ⁿ which dissolves in the stock medium (RPMI medium + fetal bovine serum + L- glutamine + sodium pyruvate + Penicillin-Streptomycin) is analyzed in A549 human lung cancer cell line, Beas-2B human healthy bronchial epithelial cell line, MCF7 human breast cancer cell line and Caco-2 human colon cancer cell line by XTT assay. The cell lines in this test are treated with the copper complex at concentrations of from 0.1 to 25.6 µM for 24 hours obtaining from the results a percentage vitality curve and so IC_{12.5}, IC₂₅, IC₅₀ and IC₇₅ values are found. To elucidate the mechanisms that ends the vitality of the cells, comet which is a genotoxicity assay is utilized. Average tail length, tail % DNA and olive tail moment of cell lines measurements are evaluated. Intracellular Reactive Oxygen Species levels is measured by the assay which is made with DCF-DA. XTT assay results are revealed that percentage vitality curve decreases in high doses by comparison low doses. Comet assay results are revealed that DNA fragmentations are formed in the cells treated with this copper complex and according to ROS assay results these fragmentations are occurred by oxidative damage. Results of the assays are presented that this copper complex is more effective in Caco-2 human colon cancer cell line and MCF7 human breast cancer cell line than the other cell lines.

Among all metals, copper plays a central role in every living organism's biochemistry and physiology, it is an endogenous metal in comparison with cisplatin which is frequently used in cancer treatments and for this reason it causes less toxic side effects, it causes DNA damage with nucleic acid break ability and so copper is a successful alternative in cancer treatment because of these properties.

Anahtar Kelimeler: Copper (II) mixed ligand complexes, anticancer effects, XTT assay, ROS assay, comet assay.

2016, x + 74 pages

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve yürütülmesinde bana rehberlik eden, tüm çalışmalarım boyunca yardımcı olan, ilgisini, sevgisini ve pozitif enerjisini esirgemeyen, danışmanım Sayın Hocam Prof. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ'a,

Bu süreçte ilgisi ve enerjisiyle desteğini esirgemeyen Değerli Hocam Prof. Dr. Tolga ÇAVAŞ'a,

Deneyleyrimin yapımında ve değerlendirilmesinde her zaman desteğini ve yardımını gördüğüm, sabırla öğreten, arkadaşça dinleyen Sayın Hocam Doç. Dr. Özgür VATAN'a,

Deneyleyrimde kullandığım bakır komplekslerini sentezleyen Sayın Prof. Dr. Rahmiye AYDIN ve Duygu İNCİ'ye,

Bu yola beraber çıktığım, omuz omuza çalışmaktan büyük keyif aldığım, paylaşımcı, motive edici, yol arkadaşım ve kocaman kalpli güzel dostum Merve GÜLFİDANLI'ya, Deneyleyrimi kendi deneyi gibi benimseyerek yardımcı olan ve büyük özveri göstererek çabama ortak olan sevgili arkadaşım Huzeyfe HURİYET'e,

Laboratuvarımızda tam bir ekip ruhu oluşturan güzel yürekli arkadaşlarım Sayın Araştırma Görevlisi Melika BEKTAŞ HORTOĞLU'na ve Fawaz Muhammed ABDULLAH'a,

Her zaman her konuda yanımda olan, beni sabırla dinleyen ve arkadaş olmanın da ötesinde benim için daha pek çok anlam ifade eden Büşra AYDOĞDU'ya

Tüm bu zahmetli süreçte desteklerini esirgemeyen ve evlatları olduğum için kendimi şanslı hissettiğim anneme, babama ve inancıyla bana güç veren ağabeyime,

Sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|-------|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| İÇİNDEKİLER..... | iv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ..... | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | ix |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. KURAMSAL TEMELLER..... | 2 |
| 2.1. Kanser..... | 2 |
| 2.2. Reaktif Oksijen Türleri..... | 4 |
| 2.2.1. ROS oluşumuna metal geçiş iyonlarının etkisi..... | 6 |
| 2.3. ROS Kaynaklı DNA Hasarı..... | 7 |
| 2.4. DNA Hasarı ve Kanser..... | 8 |
| 2.5. Sitostatik İlaçlar..... | 10 |
| 2.6. Metal İçerikli İlaçlar ve Cisplatin..... | 11 |
| 2.6.1. Cisplatin..... | 12 |
| 2.7. Antikanser Ajan Olarak Bakır (II) Kompleksleri..... | 14 |
| 2.8. Fenantrolin..... | 18 |
| 2.9. Protein Metabolizması ve Kanser..... | 19 |
| 2.10. Asparajin Aminoasidinin Biyolojideki Yeri ve Kanserle İlişkisi..... | 20 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM..... | 21 |
| 3.1. Kullanılan Ekipmanlar, Sarf Malzemeler..... | 21 |
| 3.2. Kullanılacak Hücre Hatları..... | 23 |
| 3.2.1. Bu hücre hatlarında kullanılacak hücre kültürü şartları..... | 23 |
| 3.3. Kullanılan Kompleks..... | 23 |
| 3.4. XTT Testi..... | 24 |
| 3.5. Komet Testi..... | 26 |
| 3.6. ROS Ölçümü..... | 28 |
| 4. BULGULAR..... | 29 |
| 4.1. XTT Bulguları..... | 29 |
| 4.1.1. A549 hücre hattında elde edilen XTT bulguları..... | 29 |
| 4.1.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen XTT bulguları..... | 29 |
| 4.1.3. MCF7 hücre hattında elde edilen XTT bulguları..... | 29 |
| 4.1.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen XTT bulguları..... | 29 |
| 4.2. Komet Testi Bulguları..... | 31 |
| 4.2.1. Kuyruk Uzunluğu Bulguları..... | 31 |
| 4.2.1.1. A549 hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları..... | 31 |
| 4.2.1.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları..... | 32 |
| 4.2.1.3. MCF7 hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları..... | 33 |
| 4.2.1.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları..... | 34 |
| 4.2.2. Kuyruk %DNA bulguları..... | 36 |
| 4.2.2.1. A549 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları..... | 36 |

| | |
|---|----|
| 4.2.2.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları..... | 37 |
| 4.2.2.3. MCF7 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları..... | 38 |
| 4.2.2.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları..... | 39 |
| 4.2.3. OTM (Olive Kuyruk Momenti) bulguları..... | 41 |
| 4.2.3.1. A549 hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları..... | 41 |
| 4.2.3.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları..... | 42 |
| 4.2.3.3. MCF7 hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları..... | 43 |
| 4.2.3.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları..... | 44 |
| 4.3. ROS Testi Bulguları..... | 47 |
| 4.3.1. A549 Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları..... | 47 |
| 4.3.2. Beas-2B Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları..... | 48 |
| 4.3.3. MCF7 Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları..... | 49 |
| 4.3.4. Caco-2 Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları..... | 50 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ..... | 52 |
| KAYNAKLAR..... | 58 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 81 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| Simgeler | Açıklama |
|----------|------------|
| Asn | Asparajin |
| Cu | Bakır |
| Fe | Demir |
| μ l | Mikrolitre |
| μ m | Mikrometre |
| ml | Mililitre |



| Kısaltmalar | Açıklama |
|--------------------|--------------------------------|
| ATP | Adenozin Trifosfat |
| DMSO | Dimetil Sülfoksit |
| DNA | Deoksiribo Nükleik Asit |
| EDTA | Etilen Diamin Tetra Asetikasit |
| EtBr | Etidyum Bromür |
| FBS | Fetal Bovine Serum |
| GSHP× | Glutatyon |
| LMA | Low Melting Agarose |
| LPO | Lipit Peroksidasyonu |
| NER | Nükleotit Ekzisyon Onarımı |
| OTM | Olive Tail Moment |
| PBS | Phosphate Buffered Saline |
| RFU | Relatif Floresan Değeri |
| RNA | Ribo Nükleik Asit |
| ROS | Reactive Oxygen Species |
| SOD | Süperoksit Dismutaz |
| TBA | Tiyobarbitürik Asit |
| UV | Ultraviyole |

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

| | | |
|-------------|---|----|
| Şekil 2.1. | ROS kaynaklı DNA hasarı..... | 8 |
| Şekil 2.2. | Cisplatin İnterkalasyonu..... | 14 |
| Şekil 2.3. | (L-asparajin)..... | 20 |
| Şekil 3.1. | 1,10 fenantrolin..... | 23 |
| Şekil 3.2. | ([Cu(5-nitro-1,10-fenantrolin)(L-asparagin)]ClO ₄)n kristal ve 1D polimer yapısı..... | 26 |
| Şekil 4.1. | A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hattında kullanılan bakır (II) kompleksinin µM cinsinden IC ₅₀ değerleri..... | 30 |
| Şekil 4.2. | A549 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması..... | 31 |
| Şekil 4.3. | Beas-2B hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması..... | 32 |
| Şekil 4.4. | MCF7 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması..... | 33 |
| Şekil 4.5. | Caco-2 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması..... | 34 |
| Şekil 4.6. | A549 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması..... | 36 |
| Şekil 4.7. | Beas-2B hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması..... | 37 |
| Şekil 4.8. | MCF7 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması..... | 38 |
| Şekil 4.9. | Caco-2 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması..... | 39 |
| Şekil 4.10. | A549 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması.... | 41 |

| | |
|-------------|--|
| Şekil 4.11. | Beas-2B hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması...42 |
| Şekil 4.12. | MCF7 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması...43 |
| Şekil 4.13. | Caco-2 hücre hattının bakır kompleksinin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması... 44 |
| Şekil 4.14. | Komet testi preparatlarından mikroskopik görüntü örnekleri.....46 |
| Şekil 4.15. | Bakır kompleksinin A549 hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması.....47 |
| Şekil 4.16. | Bakır kompleksinin Beas-2B hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması.....48 |
| Şekil 4.17. | Bakır kompleksinin MCF7 hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması.....49 |
| Şekil 4.18. | Bakır kompleksinin Caco-2 hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması.....50 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

| | | |
|--------------|--|----|
| Çizelge 2.1. | Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri..... | 5 |
| Çizelge 3.1. | Çalışmalarda kullanılan ekipman..... | 21 |
| Çizelge 3.2. | Çalışmada kullanılan sarf malzemeler..... | 22 |
| Çizelge 4.1. | Bakır (II) kompleksinin A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarında IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} değerleri..... | 30 |
| Çizelge 4.2. | Kompleksin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin büyüme kontrol ile karşılaştırılması..... | 35 |
| Çizelge 4.3. | Kompleksin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin büyüme kontrol ile karşılaştırılması..... | 40 |
| Çizelge 4.4. | Kompleksin IC ₇₅ , IC ₅₀ , IC ₂₅ ve IC _{12,5} dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin büyüme kontrol ile karşılaştırılması..... | 45 |
| Çizelge 4.5. | Bakır kompleksinin A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin büyüme kontrol ile karşılaştırılması..... | 51 |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Görülme sıklığı her geçen gün artan kansere karşı bilim dünyası amansız bir mücadele vermektedir. İnsanların nasıl daha fazla risk altında olduğunu ve korunma yöntemlerini araştıran bilim adamları, çalışmalarını ışığında yeni yöntemleri tıp dünyasına sunmayı hedeflemektedir. Tıbbi bileşiklerin çoğu organik ya da doğal ürünlerden elde edilmesine rağmen sisleptinin antitümör aktivitesinin keşfi ile metal komplekslerin kanserle mücadeledeki potansiyeli üzerinde birçok araştırma yapılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada da, tüm metaller arasında, her canlı organizmanın fizyolojisi ve biyokimyasında merkezi rol oynayan esansiyel iz element bakırın sentezlenen kompleksinin çeşitli kanserli hücre hatları üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Kanser büyük bir sağlık sorunu olarak artış göstermektedir ve kanserde yeni tedavilerin gelişimi tıbbi kimyanın birincil amacı haline gelmektedir. Antikanser ilaç tasarımı farmasötik araştırmalarda günümüzde en yoğun gelişim gösteren alandır (Wang ve Lippard 2005, Vyas ve ark. 2014). Sisleptinin antitümör etki potansiyelinin farkına varılması diğer metal bileşiklerinin antikanser potansiyeli üzerinde birçok araştırma yapılmasına yol açmıştır (Kucková ve ark. 2015). Bununla birlikte önemli yan etkiler ve ilaç direncinin artması metal bileşiklerinin klinik uygulamalarını sınırlamıştır (Iglesias ve ark. 2014). Biyoorganik ve tıbbi kimyagerler daha iyi biyolojik aktiviteye ve seçiciliğe sahip, daha az toksik ve sisleptin analogu ilaçların çözümlenmemiş klinik problemlerinin üstesinden gelebilen, farklı mekanizmalı, metal bazlı, yeni antikanser ajanların sentez ve karakterize edilmesine odaklanmışlardır (Hanif ve ark. 2014, Muhammad ve Guo 2014). Şimdilerde çalışmalar çoğu metal kompleksinin insan kanser hücrelerinin büyümesini inhibe edici özellikte olduğunu ortaya koymaktadır ve kapsamlı olarak in vivo ve in vitro değerlendirmeler ve araştırmalar yapılmaktadır (Brujininx ve Sadler 2008, Rijt ve Sadler 2009, Hanif ve ark. 2014, Muhammad ve Guo 2014). Bakır II, hem insan metabolizmasında hem de farmasötik ajan olarak biyolojik sistemlerde önemli roller oynayan esansiyel bir elementtir (Kovala-Demertzi ve Inorg 2000, Kannan ve ark.2013). Metal içerikli antikanser ajan olarak uygun bir alternatif olabileceği yönünde çeşitli özelliklere sahiptir. Çok sayıda bakır kompleksi apoptozu düzenlediği ve DNA'ya kuvvetlice bağlanıp kırımım gösterebildiği için potansiyel kanser inhibe edici ajan olarak bilim dünyasına önerilmektedir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Kanser

Kanser hastalığı günümüzde her ülkede, her yaşta görülebilen, coğrafi sınır tanımayan, sosyal statü ve gelir durumu ayrımı yapmadan her insanı bulabilen evrensel bir sorundur. Kanser, en basit haliyle; kontrolden çıkan anormal hücrelerin düzensiz çoğaldığı hastalıklar grubudur ve somatik genetik hastalıkların en komplike olanıdır. Kanser hücresi normal hücrelerden farklı olarak, kontrolsüz ve sınırsız çoğalma, kan ve lenf yolu ile uzak organlara giderek ve orada yerleşerek koloni yapma yeteneğine sahiptir. Canlının doğal bağışıklık sisteminden kaçabilmekte ve ölüme sebep olabilmektedir. Dolayısıyla bu şekildeki ölümcül bir hastalığın tedavi edilebilmesi büyük önem taşımaktadır ve günümüzde bu amaçla çeşitli yöntemler kullanılmaktadır.

Tüm kanserler, DNA dizisindeki birtakım anormalliklerle meydana gelmektedir. Kanserlerin %10- 15'inin, kalıtsal olduğu; geriye kalan %85-90'lık kısmının ise DNA'nın, mutajenlere maruziyeti, hücre DNA'sındaki hafif progresif değişiklikler ve replikasyonda hatalar ile oluştuğu düşünülmektedir. Bazen bu mutasyonlardan biri, içinde bulunduğu hücrenin büyümesini ve üreyen bir kanser klonunun oluşmasına sebep olur.

Kansere, bakterilerden virüslere, radyasyondan kalıtıma, çevresel faktörlerden beslenme alışkanlığına ve kimyasallara kadar birçok faktörün sebep olduğu düşünülmektedir. Kalıtım yoluyla kanser meydana gelme olasılığı çevresel faktörlere oranla çok daha azdır.

Genlerin, bazı hastalıklara karşı yatkınlığa neden olup olmadıkları konusundaki araştırmalar sürmektedir. Normalde tümör gelişimini önleyen tümör baskılayıcı genlerdeki bir bozukluğun, kalıtsal olarak aktarılması ve bir karsinojenin de eklenmesi ile bireyler kansere daha eğilimli hale gelebilmektedirler. Meme ve yumurtalık kanseri gibi bazı kanser türlerinde, kanserin kalıtsal geçişine ait bazı genler bulunmuştur. Lösemiler ve Wilms tümörü gibi bazı çocukluk çağı tümörleri kalıtsal özellik gösterir.

Kalın barsakta polip gelişimindeki genetik yatkınlık da, kalın barsak kanseri riskini yükseltmektedir. Kalın barsak (kolon) kanserlerinin yaklaşık %85-90'ı doğumdan sonra meydana gelen mutasyonların sonucu olsa da, geriye kalan kısmı kalıtsaldır.

Yine birçok kimyasal madde de kanser sebepleri arasındadır. İlaçlar ve yağlı yiyecekler, bazı küfler (alfatoksinler), iyotça fakir ve kırmızı etten zengin diyetler, yanmış yağları içeren besinler de kansere sebep olan önemli çevresel faktörlerdendir. Sigara, alkol, hardal gazı, benzen, kömür tozu ve zifti, madeni yağlar ve naftalin de kanser yapıcı maddelerdir.

Helicobacter pylori, T hücreli lösemi virüsü, gibi virüs ve bakteriler de biyolojik olarak normal niteliklere sahip bir hücre kültürünü transforme edip kanser oluşturabilmektedirler.

Kansere sebep olan fiziksel etkenler arasında ise, radyasyon, ısı, güneş ışığı ve mekanik darbeler bulunmaktadır. İyonize radyasyon gibi ışınımlar (x, gama ışınları, nükleer emisyonlar, Ultra viole ışınları) biyolojik makromoleküllere direkt olarak etki edebilecek yeterli enerjiye sahiptirler. Makromoleküllerden elektron kopartabilir ya da bunları pozitif yükü yükleyebilirler (Sahu 1990, Yokuş ve Çakır 2002, Heynick ve ark. 2003). Bu ise DNA'da tek ve çift zincir kırıkları ile baz yada şekerde modifikasyonlara sebep olur. Bu duruma örnek olarak, ev aletleri verilebilmektedir. Ev aletlerinden yayılan düşük ve yüksek frekanslı manyetik alanların da (noniyonize ışınımlar) DNA üzerinde hasar oluşturduğuna dair çalışmalar mevcuttur. (Jajte ve ark. 2001, Yokuş ve Mete 2003).

Çevresel faktörlerin ve beslenme alışkanlıklarının olumlu yönde olması ise kanserden korunmada önemli bir etkidir. Meyve ve sebze tüketiminin akciğer, mide, meme, pankreas, kalın bağırsak, gırtlak ve yemek borusu kanserlerini önlediğine dair bilimsel bulgular mevcuttur. Bu koruyucu etkinin de meyve ve sebzelerin içeriklerindeki antioksidanlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Genetik değişiklik replikasyonla yayıldığı için karsinogenez olayı için hedef hücreler, dokularda sürekli yenilenen kök hücreleridir (Devereux ve ark. 1999). Tümör oluşumu, neoplastik transformasyon (genetik hasarların gelişimiyle normal hücrenin neoplastik hücreye dönüşümü) ve neoplastik gelişim olarak iki aşamalıdır.

Onkogenez ve karsinogenezde olayların ilk basamağı neoplastik transformasyondur (Berenblum 1974, Elenbaas 2001). Neoplastik transformasyon kendiliğinden olabileceği gibi çeşitli şekillerde uyarımlarla da (baz çifti değişiklikleri, yanlış eşleşme, delesyon, translokasyonlar ve amplifikasyonlar) oluşabilir (Devereux ve ark. 1999). Yani neoplastik transformasyon, DNA replikasyonunda ve tamir mekanizmalarında hatalar meydana gelmesiyle hücrelerde oluşan mutasyonların bir sonucudur. Mutasyonlar, proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler, tümör baskılayıcı genleri düzenleyici genler ve büyümeyi kontrol edici genlerde meydana gelir (Bos ve van Kreijl 1992, Vogelstein ve Kinzler 1993, Hussein ve Harris 1998).

Onkogenezin ikinci aşamasındaki neoplastik gelişme, kanser hücrelerinin klonal proliferasyonuna yol açarak (Nowell 1976, Devereux ve ark. 1999), önce çevre dokulara sonra da uzak dokulara yayılarak büyümesine sebep olur (Butterworth 1992). Sürekli proliferasyon sonucu tümör karakteri malignansiye doğru gider ve progressif değişiklikler ortaya çıkar (Foulds 1969).

Sonuç olarak, kansere sebep olan etmen her ne olursa olsun, hücrenin genetik malzemesinde bozulma meydana gelir. Tek bir gendeki mutasyondan ziyade, birkaç gende birden oluşan hasar, kanser oluşumunda rol oynamaktadır.

Kanserde değişime uğramış genler, normalde doku homeostasisi ve hücre büyümesinden sorumlu üç ana biyolojik yolu (hücre siklusu, apoptosis ve farklılaşma) etkiler. Bir yolda oluşan aksama, bir diğerinde şiddetli sonuçlara neden olabilir (Corn ve El-Deiry 2002).

2.2. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen insan yaşamı için çok gerekli olmasına karşın, normal metabolizma esnasında üretilen bazı reaktif oksijen türleri vücuda yoğun bir zarar verme potansiyeline sahiptir (Diplock 1998). Çoğunu serbest radikallerin oluşturduğu reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüyle kıyaslandığında, kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (Nawar 1996). Serbest radikaller, atomik orbitali üzerinde eşlenmemiş elektron (e^-) taşıyan, yüksek kimyasal reaktiviteye sahip ve bu yüzden stabil olmayan moleküllerdir. Serbest radikal oluşumunun artması, oksidatif stresi tetiklemektedir.

Biyolojik sistemde prooksidanlarla antioksidanlar arasında bulunan dengenin, prooksidanlar yönünde bozulması oksidatif stres olarak tanımlanır. Hücreler şiddetli olmayan oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de genellikle antioksidan enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak, hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olmadığı durumlarda, reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidanlar arasındaki denge bozulur, bunun sonucunda DNA, protein, karbonhidratlar ve lipitler gibi hücrel makromoleküller hasar görür (Halliwell ve Gutteridge 1989, Gutteridge 1994, Halliwell ve Whiteman 2004, Berger 2005, Zadák ve ark. 2009, Wildburger ve ark. 2009). Bu hasarın yaşlanmaya yol açtığına ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Diplock 1998).

Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları gibi birçok etmen kaçınılmaz bir şekilde oksijen türevi serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu radikallerin başlıcaları; tekli oksijen (1O_2), süperoksit anyonu ($\cdot O_2$), hidroksi ($\cdot OH$), peroksi ($ROO\cdot$) ve alkoksi ($RO\cdot$) radikalleridir (Kaur ve Kapoor 2001).

Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık vücutta, farklı hücrelerde ve farklı serbest radikaller üzerinde rol oynayan birbirlerini tamamlayıcı özellikte sistemler vardır (Diplock 1998).

Çizelge 2.1. Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri (Diplock 1998)

| Oksidan | Antioksidan Savunma |
|-----------------------------|--|
| Sigara dumanı | Süperoksit dismutaz |
| Egzersiz | Katalaz |
| Çevre kirleticiler | Glutatiyon peroksidaz |
| Ateşli hastalıklar | Glutatiyon |
| Radyasyon | Ubikinon |
| Çoklu doymamış yağ asitleri | Selenyum |
| ile zengin bir diyet | Ürik asit |
| İskemi | E vitamini |
| Karsinojenler | C vitamini |
| | β - karoten ve diğer karotenoidler |

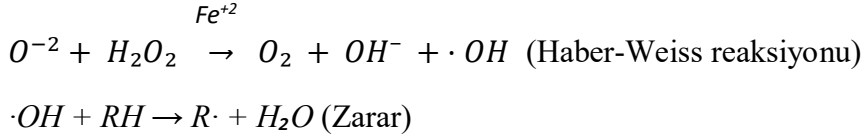
Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri süpürme ve stabilize etme yeteneğine sahip maddelere “antioksidan” adı verilir (Elliot 1999). Antioksidanlar mekanizmalarına göre, birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar; mevcut durumdaki radikallerle reaksiyona girer ve bunların daha zararlı formlara dönüşerek yeni serbest radikal oluşturmalarını önler. Birincil antioksidan kategorisinde yer alan antioksidanlara örnek olarak, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri verilebilir. Bu enzimler serbest radikalleri yok etme yeteneğindedir. Ayrıca serbest radikallerin DNA, proteinler ve lipidler gibi hücrenel bileşenlere zarar vermesini sınırlandırmak amacıyla bir hücrenel bölgeden diğerine geçişini de önleyebilmektedirler (Diplock 1998). İkincil antioksidanlar ise; oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller gibi bileşiklerdir (Ou ve ark. 2002).

2.2.1 ROS oluşumuna metal geçiş iyonlarının etkisi

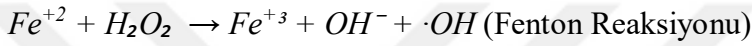
Demir ve bakır gibi geçiş metal iyonları da canlı organizmada serbest radikal oluşturan güçlü oksidatif katalizörler olarak görev yapmaktadırlar. Demir (Fe); oksidatif reaksiyonlar üzerinde daha etkin bir metaldir, Bakır (Cu) ise katalizli reaksiyonlar üzerindeki etkisi henüz tam olarak anlaşılammıştır (Halliwell and Gutteridge 1990).

Biyolojik sistemlerde oksijen taşınmasında, ATP üretiminde, DNA ve klorofil sentezinde demir önemli bir role sahiptir ve demirin serbest formları canlı hücrelerde toksik etki yapabilmektedir. Bu toksisite neticesinde oluşan aktif oksijen türleri lipid peroksidasyonuna veya DNA moleküllerinde zarara sebep olabilmektedir. Normalde tüm canlı hücreler serbest demirin toksik etkisini yok eden ve de demirin fazlasını toksik olmayan formlarda hücre içinde depolayan sistemlere sahiptir (Miller 1996). Birçok metal vücutta şelat oluşturmuş formda bulunur. Örneğin; Cu çeşitli enzimlerde, Fe ise ferritin gibi proteinlerde veya miyogloblin ve hemoglobinin porfirin halkasında şelat oluşturmuş halde bulunmaktadır (Lindsay 1996). Şelat oluşumu antioksidan savunma sistemine önemli katkıda bulunmaktadır. Katarakt, ateroskleroz, diyabet gibi patolojik koşullar altında metal iyonlarının serbest ve zararlı formlarda bulunduğuna dair güçlü kanıtlar bulunmaktadır (Lavelli ve ark. 2000).

Süperoksit anyonu ($\cdot O_2^-$), Fe^{+2} katalizörlüğünde H_2O_2 ile reaksiyona girdiği zaman zararlı hidroksi ($\cdot OH$) radikallerini oluşturur. Böylelikle “Haber-Weiss reaksiyonu” meydana gelmiş olur (Duthie ve ark. 1989).



Fe iyonları, Haber-Weiss reaksiyonunun yanında hidroperoksitlerin zararlı hidroksi radikaline dönüştüğü “Fenton-tipi reaksiyonları” da katalizlemektedir. Hidroksi radikali de oldukça reaktif bir tür olup, hızlı bir şekilde lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonlarını başlatmaktadır (Miller 1996).

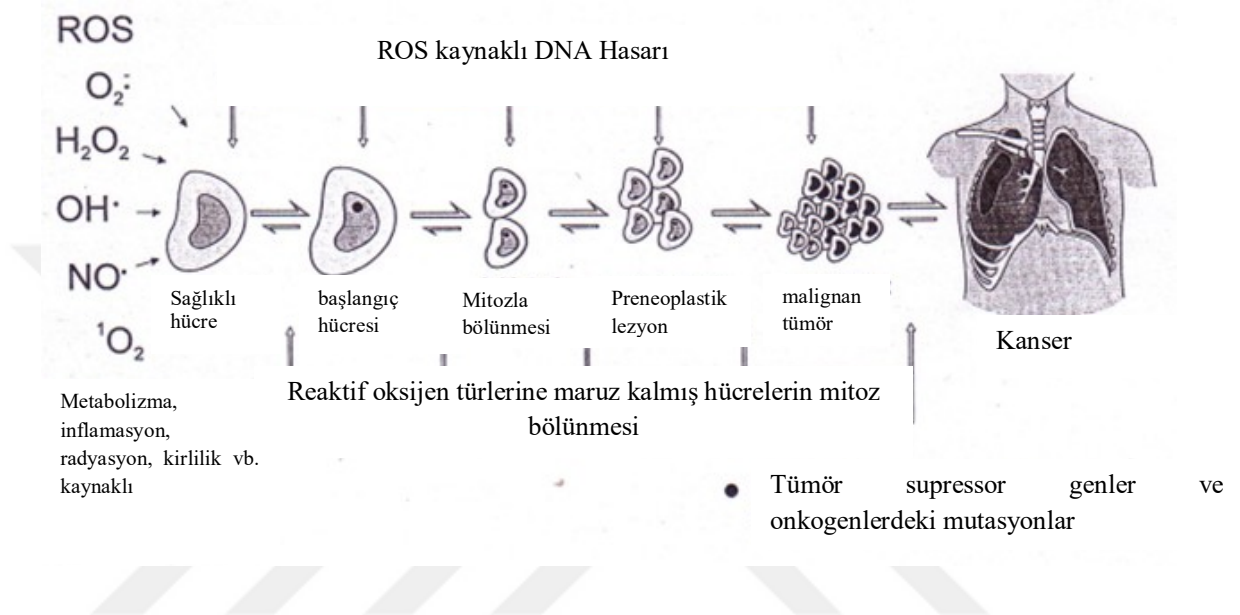


Özellikle yüksek miktarda oksijen kullanımından dolayı oksidatif strese karşı zayıf olan beyin, aynı zamanda yüksek düzeylerde Fe ve diğer divalent katyonları bulundurmakta ve Fenton-tipi reaksiyonlar sonucunda meydana gelen reaktif oksijen türleri nöronlara zarar vermektedir. Düşük antioksidan savunmasına sahip olan beyin dokusu aynı zamanda oksidatif hasara karşı dokuyu zayıflatan çoklu doymamış yağ asitlerini de yüksek düzeyde içermektedir. Oksidatif strese maruz kalan beyin dokusundaki hasarların beyin iskemisi, hafıza bulanıklığı, alzheimer, parkinson gibi birçok nörolojik bozuklukta önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Meydani 2001).

2.3. ROS Kaynaklı DNA Hasarı

ROS'tan kaynaklanan DNA hasarının meydana gelmesinde Halliwell'e göre iki mekanizma vardır: Birincisi direkt olarak hidroksil radikalince oluşturulan DNA zincir kırılımı, baz modifikasyonu ve deoksiriboz fragmentasyonudur. İkincisi, oksidatif stres sonucu oluşan endonükleaz inaktivasyonu ile DNA fragmentasyonlarının oluşmasıdır (Halliwell ve Aruoma 1991). Ayrıca ROS ve ROS oluşumuna yol açan karsinogenler, büyüme desteğine, büyüme inhibisyonuna ve apoptotik sinyal yollarına etki edip, tümör oluşumunu ve gelişimini etkileyebilir (Williams ve Jeffrey 2000, Deshpande ve Irani 2002). Oksidatif strese bağlı olarak oluşan, DNA hasarı giderilmezse, premutajenik karakter gösterir (Yokuş ve Çakır 2002). Mitozun hasarlı kopyalanan DNA ile sürmesi, tümör hücresi ile son bulabilir. Ayrıca ROS, protein ve lipid peroksidasyonu ile plazma membranında hücrel aktiviteyi etkileyip yapısal değişiklikler de meydana getirebilir.

Reaktif oksijen türleri membrana bağlı protein kinazları, büyüme faktörleri ve reseptörlerini bu sayede de sinyal iletimini, onkogen aktivasyonunu ve baskılayıcı genlerin inaktivasyonunu etkileme yeteneğine sahiptir. Bu da göstermektedir ki ROS, onkogenler ve kanser oluşumu üzerinde önemli bir etkidir (Yokuş ve ark. 2008).



Şekil 2.1. ROS kaynaklı DNA hasarı (Anonim)

2.4. DNA Hasarı ve Kanser

Tüm organizmalar (bakteri, maya, drosophila, balıklar ve de insanlar) hücrelerini çevresel hasarlara karşı koruyan DNA onarım mekanizması içerirler. DNA onarımı, hücre ölümünü, mutasyonu, replikasyon hatalarını, DNA hasarının devamlılığını ve genomik kararsızlığı azaltan bütün süreçlerde kullanılır. Bu süreçlerdeki bir anormallik kansere ve yaşlanmaya neden olur. Genom, DNA'da hasara sebep olan çok sayıda farklı etkene maruz kalır. Hasar kaynakları ekzojen ya da endojendir. Güneşten gelen ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, mantar kaynaklı aflatoxin, yanmış tütün ve birçok kemoterapötik ajan ekzojen kaynaklardır. Endojen kaynaklara örnek olarak, oksidatif metabolizma, DNA'daki kendiliğinden değişimler, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizması verilebilir (Chu 2000).

Mutasyon, genetik materyalde meydana gelen kalıtsal değişiklik ve DNA hasarı oluşturma mekanizmasıdır. Mutasyonun çeşitli tipleri bulunmaktadır. Bu değişiklik gamet hücrelerinde ya da somatik hücrelerde oluşabilir. Gamet hücrelerindeki mutasyon sonraki nesillere aktarıldığı için, somatik hücrelerdeki de, kansere neden olabildiğı için önem taşımaktadır.

Genetik değişiklikler ve kanser arasındaki nedensel ilişki birçok deneysel ve epidemiyolojik veri ile onaylanmaktadır. Tümör baskılayıcı genlerin mutasyonel inaktivasyonu ve onkogenlerin aktivasyonu, birçok kanser türünün gelişimi ile ilintilidir. Mutajenite ve karsinojenite arasındaki ilişki, karakteristik mutasyonlara sebep olan kimyasal maddelere maruz kalma sonucunda gelişen kanserlerle ve DNA onarımındaki hatalar sonucu artan kanser riski ile açıklanabilir. Mutajenite kanserin hem başlangıç, hem de gelişme evresinde rol oynar (Lehman 1997, Beth ve Montelone <http://www-personal.ksu.edu/~bethmont/mutdes.html>, 1998, Chu 2000, Huberman 2005). Genetik kararsızlık kanserin karakteristik bir özelliğidir ve tüm kanserler, genetik kararsızlığa neden olan bir mutasyon oluştuktan sonra, bu mutasyonların çoğalmasıyla oluşmaya başlar. Normal hücreden kanserli bir hücreye dönüşüm sürecinde, hücre siklusunun düzenlenmesi, apoptoz, hücre farklılaşması ve diğer birçok hücre fonksiyonunu etkileyen spesifik mutasyonlar gereklidir.

Kanser, yalnızca bir hücrede birçok farklı gende mutasyon olursa ortaya çıkar (kolon kanserinde 6 ya da 7 mutasyon). Bu mutasyonlar genom bütünlüğünü sağlayan genlerde veya tümör gelişimi esnasında somatik hücrelerde ortaya çıkabilir. Bu değişiklikler, tek bir nükleotide, küçük DNA bölümlerinde (mikrosatelitler), genin tümünde, kromozomun yapısal bileşenlerinde ya da kromozomun tümünde gerçekteşebilir (Lehman 1997, Beth ve Montelone <http://www-personel.ksu.edu/~bethmont/mutdes.html>, 1998, Chu 2000, Huberman 2005, Dianzani ve ark. 2006). DNA onarımı sırasında oluşan hatalar da genetik kararsızlığa neden olurlar. Kanserlerin çoğu tamir edilmemiş DNA hasarından kaynaklanır, onarım sistemindeki bozukluklar da kanserin kalıtsal türleriyle ilişkilidir. Örnek olarak, kalıtsal non-polipozal kolorektal kanser, hatalı eşleşmenin onarımında oluşan bozukluktan, kolorektal kanser ise baz çıkarma onarımındaki bir bozukluktan ortaya çıkar.

Nükleotid ekzisyon onarımı (NER) mekanizmasındaki bozukluklar da, güneşe duyarlılığa ve UV ışınlarından kaynaklı cilt kanseri riskinde artışa sebep olur. Meme kanserinin ise, iyonize radyasyona maruziyet ile ilişkisi vardır. Malign prostat kanserli hücrelerde, DNA onarım genlerinin ekspresyonuyla fonksiyonu arasındaki farklılığın prostat tümörü gelişiminde etkili olduğu ve bu durumda hatalı DNA onarımının rolü olduğu düşünülmektedir.

DNA metilasyonu, prostat kanseri başlangıcında genetik bir faktör olarak kritik roledir (Chung ve Rustgi 1995, Digweed 2003, Baglioni ve Genuardi 2004, Chow ve ark. 2004, Dixon ve Koprass 2004, Fan ve ark. 2004, Li ve ark. 2004, Stojic ve ark. 2004, Sieber ve ark. 2005, Neri ve ark. 2006). Belzile ve arkadaşlarının (2006) çalışmasında belirtildiği üzere, çok sayıda kanser hücresinde, arttırılmış DNA onarımı, kanser tedavisine karşı oluşan dirençle ilişkilendirilebilir ve bu da hastalığın tedavisinde zayıf bir öngörüye sebep olur. İyonize radyasyon ve birçok anti-kanser ilaç, DNA hasarının en şiddetli şekli olarak düşünülen DNA çift zincir kırıklarının oluşmasına neden olur. Bu kırıkların onarımı hücrenin genomik kararlılığını devam ettirmesinde ve hayatta kalmasında anahtar rol oynar. Birçok araştırmacı, kanser hücrelerinin canlılık oranını düşürmek için çift zincir kırıklarının onarımında görev edinen proteinlerin inaktivasyonu veya bu proteinlerin ekspresyonlarının azaltılması yönündeki tedavi şekline başvurmaktadır (Jean Philippe Belzile, 2006).

2.5. Sitostatik İlaçlar

Sitostatik ilaçlar, tümöre karşı etkilerini kanser hücrelerinin özelleşmiş hücre yapılarını veya metabolik sistemlerini bozarak gösterirler. Sitotoksik ilaçlar, genelde, alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, tubulin aktif ajanlar ve antibiyotikler şeklinde sınıflandırılmaktadırlar (Weijl ve ark. 1997, Block ve ark. 2007, Crohns ve ark. 2009). Yapılan çalışmalar, çeşitli sınıftaki sitostatik ajanların hem in vivo hem de in vitro olarak serbest radikal üretimine neden olduklarını göstermiştir (Sangeetha ve ark. 1990, Weijl ve ark. 1997, Facorro ve ark. 2004, Brea-Calvo ve ark. 2006, White ve ark. 2006, Chen ve ark. 2007, Simone ve ark. 2007, Sarı ve ark. 2008, Crohns 2009).

Sitostatik ilaçlarla tedavi edilen hematolojik ve/veya solid tümörlü hastaların, polimorfonükleer lökositlerinde in vitro ortamda H₂O₂ ve O₂•- üretiminin, tedavi öncesine göre net bir şekilde arttığı görülmüştür (Weijl ve ark. 1997, White ve ark. 2006). Birçok araştırma, kanser hastalarında kemoterapiye bağlı olarak lipit peroksidasyonu (LPO) ürünlerinin miktarının yükseldiğini, tedavi sonrasında da plazma E vitamini düzeyinin azaldığını göstermiştir (Weijl ve ark. 1997).

Radyoterapi ve bazı kemoterapötikler serbest radikal üretimi ile hücre ölümüne neden olmakta, antioksidanlar ise serbest radikalleri süpürmekte ve serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif reaksiyonları nötralize etmektedir (Prasad ve ark. 2002, Simone ve ark. 2007). Kemoterapi alan hastalarda, plazma lipit hidroperoksitleri ve tiyobarbitürik asit (TBA)-reaktif bileşiklerin artması, kemoterapinin oksidatif strese yol açtığına sinyal vermektedir (Sangeetha ve ark. 1990, Dürken ve ark. 1995, Hunnisett ve ark. 1995, Clemens ve ark. 1997, Lin 2002). Kemoterapi sebebiyle oluşan reaktif oksijen türlerinin; DNA, RNA, protein ve lipid gibi makromoleküllerde hücre ölümüne kadar giden zarara neden olabildiği belirtilmektedir (Brea-Calvo ve ark. 2006, Crohns ve ark. 2009).

2.6. Metal İçerikli İlaçlar ve Sisplatin

Mevcut halde kullanılan ilaçların çoğu çok önemli yan etkiler oluşturduğundan yeni terapötik ajanların senteziyle ilgili yeni stratejiler geliştirilmiştir (Mothilal ve ark. 2004, Agh-Atabay ve ark. 2005). Bir kemoterapötik ilaç olarak cisplatinin onay görmesi kimyasal ve medikal araştırmacıların metal- ligand birleşimi türevlerle ilaç dizayn edebilmesi için büyük bir önem teşkil etmiştir (Rosenberg ve ark. 1969, Pasetto ve ark. 2006, Pectasides ve ark. 2008). Çok dişli Schiff bazları, oksim ligandları vb. bileşikler, farklı donör atomlar ile metal iyonlarına değişik şekillerde bağlanabildiklerinden, farklı stokiyometri (element ölçüsü), yapı ve manyetik özelliklerde mononükleer ya da polinükleer kompleksler meydana getirebilmektedirler (Chaudhuri 2003). Önemli biyolojik mekanizmalar için model olan bu tür kompleksler, fotokromik özellik göstermekte (Margerum ve Miller 1971), alkenlerin hidrojenasyonunda katalitik aktiviteye sahip olmakta (Henrici-Olive ve Olive 1984) ve bunun yanısıra antibakteriyel (Singh ve ark. 2006) ve antifungal özellik (Chonan ve ark. 2007) göstermektedir.

Metal komplekslerin tıbbi özelliklerini etkileyen faktörler, ligandların büyüklüğü, hidrofobikliği ve metal iyonların karakteridir (Selvi ve Palaniandavar 2002). Farklı ligand ve metallerin kullanımıyla yeni komplekslerin araştırılması tıbbi özellikleri üzerinde etkili faktörlerin rolü ve önemini anlamak açısından gereklidir. Polipridil komplekslerin biyolojik ve antikanser aktivitesi üzerindeki yardımcı ligandların etkisi de incelenmiştir (Chen ve ark. 2010, Jaividhya ve ark. 2012). Bunun sonucunda daha düzlemsel ve hidrofobik yardımcı ligandlar bulunmuştur ve bu komplekslerin biyolojik ve antikanser aktiviteleri fayda sağlamaktadır (Anjomshoa ve ark. 2014).

Metal bazlı ilaçların detaylı araştırılmasıyla, metal komplekslerin lipofilitesinin incelenmesi önem kazanmıştır. Çünkü üstün lipofilite komplekslere membrandan hızlıca geçebilme imkanı verir (Puckett ve Barton 2007). S. Tardito ve çalışma arkadaşları çeşitli lipofilik ligandlı bakırlara bağlanan ajanların aksiyon mekanizmasını ortaya çıkarmıştır (Tardito ve ark. 2011). Son zamanlarda metal komplekslerin siklometallesinin bu komplekslerin lipofilitesi üzerinde yoğun şekilde etkili olduğu ve hücre alımlarını belirgin bir biçimde geliştirdiği ve sonuçta da komplekslerin antikanser özelliğini hızlandırdığı belirtilmiştir (Klajner ve ark. 2014). Araştırmacılar, hücre membranının çok yüksek tercih L-ayna görünümü gösteren doğal bir fosfolipid kiral molekül olduğunu bulmuştur (Finefield ve ark. 2012, Zhang ve ark. 2012). Böylelikle kiralitenin komplekslerin farmakolojik özelliklerine önemli derecede etki gösterdiği anlaşılabilir. Bu nedenle metal komplekslerin kiralitesi ve lipofilitesi göz önüne alınarak sentezlenmesi, metal kaynaklı antikanser ilaçlar için dikkate alınması gereken yeni bir durumdur (Helal ve ark. 2013, Ting ve ark. 2014).

2.6.1. Sisplatin

Sisplatin çok sayıda solid tümörün tedavisinde sıklıkla kullanılan platin bazlı bir kemoterapotik ajandır. İlk önce *Escherichia coli*'nin büyüme inhibitörü olarak keşfedilmiş, daha sonraki yıllarda ise antikanser etkisi tespit edilerek testis, over, serviks, baş ve boyun, küçük hücreli dışı akciğer kanseri ve lenfoma tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Klinik olarak 30 yıldan fazla bir zamanda ya sadece terapötik ajan şeklinde ya diğer sitotoksik ajanlarla kombinasyonu yapılarak ya da radyoterapide kullanılmaktadır (Abu-Surrah ve Kettunen 2006, Wang ve Guo 2008).

Diamindikloroplatin(II) kompleksi olarak da bilinen cisplatin, kemoterapide en yaygın kullanılan metal geçiş kompleksidir. Antikanser ajan olarak kullanılmasının nedeni; molekülün DNA'ya bağlanması sonucunda DNA replikasyonunun engellenmesi yönündedir.

İlaç konsantrasyonunun hücre içine akışı sınırlandırılmasıyla birlikte doygunluk hali görülmemesi nedeniyle cisplatinin büyük oranda pasif difüzyon ile hücre içine alındığı bildirilmektedir (Wang ve Lippard 2005). Buna ilaveten bakır taşınımında görev alan membran proteinlerinin de hücre içindeki cisplatin konsantrasyonunda etkili olduğu gözlenmektedir (Kuo 2007).

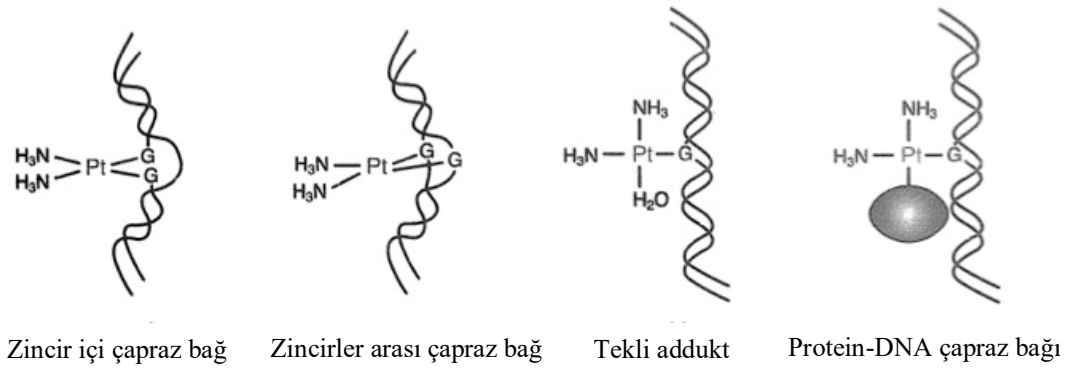
Hücreye giren bütün platinleyici ajanlar, klor veya oksalat iyonlarını kaybedip iki su molekülü kazanmakta ve hücre içindeki diğer nükleofilik moleküller (DNA, RNA, proteinler) ile etkileşebilecek hale gelmektedirler. DNA'nın büyük oluğundaki adenin ve guanin bazlarının imidazol halkalarındaki N7 atomları, platinleyici ajanlar için en ulaşılabilir ve reaktif nükleofilik DNA bölgesini teşkil etmektedir (Zorbas ve Keppler 2005). Cisplatin DNA'ya üç farklı şekilde bağlanabilir.

- 1) İplikler arasında: Platin köprüleri DNA'nın iki karşı zinciri arasında oluşabilir.
- 2) İplik içinde: Tek bir zincirde iki bitişik bazla (guanozin) köprü oluşabilir.
- 3) Guaninin O-6 ve N-7 atomları cisplatin ile şelat yapabilir.

Hidroliz olan cisplatin DNA'daki guanin bazına bağlanır ve sonra komşu guanin ile de bağlanarak halka kapanır ve bir GG makro şelatı oluşur.

GG makro şelatında iki guanozin ligandı dihedral konformasyonda ve aralarında 26° açı ile koordine olurlar. Bu durum DNA'nın 35-40° bükülmesine neden olur.

Bükülen DNA'ya yüksek hareketli grup proteinleri sıkı bir şekilde bağlanıp transkripsiyonu engellerler. Daha sonra DNA, endonükleaz enzimleriyle kesilir ve apoptoz denilen programlanmış hücre ölümü gerçekleşir (Ruiz 2006). Cisplatinin normal hücrelere zarar vermemesinin sebebi muhtemelen normal hücrelerdeki onarım enzimlerinin hücreyi zarardan korumasıdır.



Şekil 2.2. Sisplatin İnterkalasyonu (<http://www.conconilab.ca/projects>)

Sisplatin klinik başarısına karşın vücutta bir takım olumsuzlukların da oluşmasına sebep olmaktadır. Nörotoksisite, ototoksisite, nefrotoksisite ve kusma gibi yan etkiler (Lippard 1995) oluşturmasının yanı sıra bu ilaçla tedavi edilebilen kanser tipi çok azdır. Ayrıca zamanla kazanılan ve intrinsik dirençten yana da sıkıntılıdır (Rosenberg ve ark. 1969, Jamieson ve Lippard 1999). Bu problemler kimyagerleri, farklı metaller ve ligandlardan, çok sayıda koordinasyon numarası ve geometrilerden, mevcut redoks hallerinden, termodinamik ve kinetik karakterlerinden ve metal iyonlarının esas özelliklerinden kaynaklanan daha optimal stratejiler araştırmaya teşvik etmiştir.

Şimdilerde çoğu bakır kompleksi apoptozu düzenledikleri ve DNA'ya kuvvetlice bağlanıp kırınım gösterebildikleri için potansiyel antikanser maddeleri ve kanser inhibe edici ajanlar olarak cisplatine alternatif olarak önerilmektedir (García-Giménez 2009).

2.7. Antikanser Ajan Olarak Bakır II Kompleksleri

Biyolojik olarak önemli ligandların geçiş metal kompleksleri biyolojik kimyada anahtar roledir (Ahuja ve Prasad 1976). Komplekslerin spesifik yapıları aktif maddenin geçişini ve birikmesini içermektedir. Ayrıca, redoks ve ligand değişirme tepkimelerini kolayca geçirebilirler, bunların biyolojik redoks kimyasında yer almasına izin verirler ve biyolojik moleküllerle ilişkilidirler (Kostova ve Balkansky 2013). Benzimidazol halkası (parçası) içeren metal kompleksleri antifungal (Horton ve ark. 2003, Küçükbay ve ark. 2003), antimikrobiyal (Ayhan ve Altanlar 2003, Pawar 2004), antiamebik (Bharti ve ark. 2002, Özden ve ark. 2005), antiparazitik (Navarrete-Vazquez 2001) ve antitümör aktivitesi (Kabanos ve ark. 1992, Spasov ve ark. 1999) gibi biyolojik aktivitelerde geniş bir spektrum göstermektedir.

Özellikle, farklı kanser hücrelerine karşı komplekslerin sitotoksik aktivitelerinin altında yatan kimyasal prensipleri anlamak için çaba gösterilmiştir. Bu nedenle DNA gibi biyomoleküllerle (çok sayıda benzimidazol içeren bakır II komplekslerinin) ilişkisi araştırılmıştır (Marzano ve ark. 2009).

Tüm metaller arasında bakır, tüm canlı organizmaların fizyolojisi ve biyokimyasında merkezi rol oynayan esansiyel iz elementtir. (Harris ve Gitlin 1996). Bakıra çoğu enzimin kofaktörü olarak ve normal hücrel aktiviteler için ihtiyaç duyulur.

Bakır hücre içerisine başlıca copper transport protein 1 ile taşınır (Prohaska 2008). Eksikliği Alzheimer gibi nörolojik bozukluklara, bazı hastalıklara sebep olmaktadır (Macreadie 2008). Bununla birlikte bakırın rolü nükleik asit kırılımını sağladığı için çok daha komplekstir. Bu nedenle DNA hasarına sebep olan metalloilaç olarak kullanılabilir (Hammud ve ark. 2008, Katsarou ve ark., 2008, Marzano ve ark. 2008, Urquiola ve ark. 2008).

Çoğu aerobik organizmalar için bakır temel bir element olduğundan bu endojen metalin kanser hücrelerine oranla normal hücreler için daha az toksik olabileceği varsayımı bulunmaktadır. Bakır komplekslerinin DNA'nın oksidatif yıkımına ya da hidrolizine neden olduğu iyi bilinmektedir, bunlar arasında en geniş kapsamlı çalışılan kimyasal nükleazlar bakır II kompleksleridir. Genellikle, bakır II komplekslerinin DNA yıkım aktivitesi oksitlenmenin varlığında gözlenmiştir. Yayınlanan verilere göre bakır II komplekslerinin gösterdiği toksisitenin sebebi, hücre döngüsünü durduran ve apoptotik hücre ölümüne sebep olan DNA'ya bağlanma ve kırma yeteneğidir ve bu cisplatinle aynı mekanizmadır (Jamieson and Lippard,1999). Ayrıca son çalışmalarda kare düzlemlerli bakır II kompleksi fenolik ve pirdil halkalar (DNA'yı kırmada dikkate değer özelliğe sahip koordine edici gruplardır) içeren üçlü bir schiff bazı (N,N,O) tarafından, indirgeyici bir kofaktörün varlığına ihtiyaç duymadan, bir katalitik yolakla şelatlanmıştır (Pachon ve ark. 2004, Maheswari ve ark. 2006, 2007). DNA'nın bu şekilde katalitik yıkımını içeren mekanizma tamamıyla anlaşılabilir değildir ancak yüksek derecede düzlemsel bakır II kompleksinin interkalasyonu ile başlamış olabileceği düşünülmektedir.

Bakır II karışık ligand kompleksleri, apoptozu uyaran bir antikanser aktivitesi gösterdiği, dikkat çekici biçimde DNA'ya kuvvetlice bağlandığı ve kırılım oluşturduğu için önde gelen kompleksler durumuna gelmiştir (Zhang ve ark. 2004, Ng ve ark. 2008, Barve ve ark. 2009). Genelde, *in vitro* DNA hasarı oluşturan redoksça aktif ajanların, canlı hücrelerde oksidatif stres ve DNA hasarıyla uyarılan apoptotik aktiviteler gösterdiği düşünülmektedir (Cardaci 1979). Sigman ve arkadaşları 1,10 fenantrolin bakır komplekslerinin moleküler oksijen ve bir indirgen varlığında çift zincirli DNA için yüksek bir seçilimle etkili kimyasal nükleazlar olarak rol oynadığını göstermişlerdir (Sigman ve ark. 1979, Spassky ve Sigman 1985).

Burstyn ve arkadaşları makrosiklik triaminlerin bakır II komplekslerinin plasmid DNA'nın hidrolitik yıkımını desteklediğini bildirmiştir (Hegg ve Burstyn 1998). Biyolojik olarak aktif ligandlara sahip olan çoğu bakır II kompleksi, yüksek nükleobaz affinitesi ve nükleaz aktivitesi göstermiştir ve antikanser ajanlar olarak hizmet etme potansiyelleri bulunmuştur (Cardaci ve ark. 2004).

Bakır II kompleksleri merkezli sitotoksikite için başka bir mekanizma hücre ölümüne yol açan ROS üretimi kanalıdır (Tardito ve ark. 2007). Bakır ROS oluşumunu kolaylaştıran, (katalizleyen) membran lipidlerinin peroksidasyonuna sebep olan ROS'ları oluşturan Haber-Weiss reaksiyonuna katılır (Britton 1996).

Bununla birlikte çok sayıda çalışma göstermiştir ki apoptotik ilaçlar, (Chibber ve ark. 2011, 2012) bitki kökenli moleküller (Hadi ve ark. 2000, 2007) ve vitamin C (Ullah ve ark. 2011) bakır II kaynaklı internükleozomal DNA fragmentasyonuna yol açan Fenton benzeri reaksiyonlarla ROS üretmektedir.

Ayrıca bakır, kromatin DNA ile, özellikle guaninle ilişkili önemli bir metal iyonudur. Böylelikle kanser hücrelerindeki hedef bakır, etkili antikanser stratejisi olarak hizmet verebilir. İnsan periferik lenfositleri kullanılarak malignan duruma benzer hücrelerde bakır II'nin dışsal olarak coumestrole (bir çeşit fitokimyasal) eklenmesinin varlığında lipid peroksidasyonu, protein karbonilasyonu, ROS üretimi, DNA hasarı ve apoptoz hesaplanmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki bakır II ve coumestrol ilişkisi, işlem görmüş lenfositlerde lipid peroksidasyonuna ve protein karbonilasyonuna (oksidatif stresin markırları), DNA fragmentasyonuna ve apoptozu yol açmıştır.

Dahası, lenfositlerin ROS temizleyiciler ve membran geçirgen bakır şelatörü neocuproine ile inkübasyonu DNA hasarı ve apoptozun inhibisyonu ile sonuçlanmıştır. Bu da coumestrolün, bakır II'nin DNA fragmentasyonu ve apoptoza yol açan ROS üretimi için var olan redoks döngüsüyle ilişkili olduğunu göstermektedir.

Literatürdeki kanıtlar, malignan hücrelerin normal hücrelere kıyasla yüksek seviyede bakır içerdiğini göstermektedir (Ebadi ve Swanson 1988, Yoshida ve ark. 1993, Nasulewicz ve ark. 2004). Bakır özellikle guaninle olmak üzere DNA bazlarıyla yakından ilişkili, kromatin DNA'da bulunan önemli bir redoks metal iyonudur.(14) Serum ve dokulardaki bakır seviyeleri, normal dokulardan örneklerle kıyasla iki ve ya üç kat yüksektir (Zowczak ve ark. 2001).

Üstelik, malignan hücrelerdeki bakır seviyelerinin anjiyogenez ve metastaz için önemli olduğu kabul edilir (Lowndes ve Harris 2005).

Antitümör aktivitesi gösteren birtakım bakır II kompleksleri de farklı bir eylem mekanizması göstermiştir ki bunun insan topoizomeraz II α nin inhibisyonuna dayandığına inanılmaktadır (Zeglis ve ark. 2002, Galal ve ark. 2010). Topoizomerazlar hücre canlılığı için gereklidir ve kanser hücrelerinde yüksek seviyede ifade edildiklerinden (Jarvinen ve Liu 2006) antikanser ilaçlar için cazip hedeflerdir. DNA'nın açılması ve transkripsiyon, replikasyon ve diğer DNA topolojisini bozan işlemlerden sonra asli DNA topolojisini restore etmek için ihtiyaç duyulan yaygın enzimlerdir (Wang 2002). Bu enzimler zincir kırılmasına sebep olarak DNA'nın fosfodiester omurgasına saldırmak için aktif nokta tirozin kalıntılarını kullanırlar. Enzim daha sonra kırılma vasıtasıyla diğer zincire geçer, açılmış DNA'yı serbest bırakır (Wang 2002, Vos ve ark. 2011).

Bu mekanizmanın önemli özelliği, ayrık olan DNA'ya kovalent olarak bağlanmış enzimin kovalent ara ürün ile birbirini takip etmesidir. Ara ürün sürüp giderken, hücre tehlikededir, DNA kırıklarının birikmesi hücrelerde DNA hasarına hatta apoptoza sebep olabilir (Vos ve ark. 2011). Bu kovalent ara ürünü stabilize edebilen topoizomeraz zehri inhibitörleri yoğun ölçüde etkili antikanser ilacı ve antibakteriyel ilaç olabilir (Pommier 2013). Metal kaynaklı komplekslerin insan topoizomeraz II α inhibe edici olduğuna dair çok sayıda rapor bulunmaktadır.

Platin ve bakır kompleksleri de yukarıda bahsedildiği üzere bu inhibisyonu gerçekleştiren komplekslere dahildir (Galal ve ark. 2010, Zeglis ve ark. 2011, Arjmand ve ark. 2011, Das ve ark. 2014). Sonuç olarak yapılan çalışmalarda bakır şelatlı ligandlar insan kanser hücre tiplerinde tümör hacminde, mitotik ve proliferasyon indekslerinde önemli bir düşüş göstermiştir (Trejo-Solis ve ark. 2005).

2.8. Fenantrolin

Organik yapıya ve metal atomlarına sahip olan organik-inorganik hibrid moleküller çeşitli biyolojik aktiviteler gösterirler. Böylelikle biyolojik sistemlerin analizi için etkili bir araç olarak kullanılırlar. Nitrojen içeren ligandlar kemoterapide ve asimetrik katalizlerde geniş uygulamalara sahiptir (Adelaide ve James 2013).

İyi bilinen bir divalent metal şelatlayıcı ajan olan 1,10 fenantrolin çok moleküllü kimya ve moleküler tanıma alanlarında zaman içinde başrol konumuna gelmiştir. DNA'nın kiral tanınması, redoks reaksiyonlarında destekleyici görev alması ve ticari heterojen immün-DNA testlerinde duyarlılaştırıcı olması bu alanlarda kullanımını yaygınlaştırmıştır.

1,10- Fenantrolin ve türevleri hem metalsiz durumlarda hem de geçiş metaline koordine edilmiş ligandlar olarak çoğu biyolojik sistemin fonksiyonunu bozar (Silva ve ark. 2014). Son çalışmalar 1,10 fenantrolin bakır II komplekslerinin antikanser ajanı olarak DNA'ya bağlanma özelliklerini, nükleaz aktivitesini ve antikanser aktivitesini araştırıp incelemiştir (Ruiz-Azuara ve Bravo-Gomez 2010, Buchtík ve ark. 2012, Yin ve ark. 2013, Zhou ve ark. 2013). Diğer çeşitli bakır komplekslerinin oksijenin varlığına ihtiyaç duyan bir oksidatif mekanizmayla DNA'yı kırdığını göstermiştir (Hernández-Gil ve ark. 2012, Gökçe ve Gup 2013).

Bu ajanlar tümör hücreleri için sitotoksiktir (Da Silveira ve ark. 2008, Katsarou ve ark. 2008) ve hücrel apoptozisi tetikler (Filomeni ve ark. 2007, Jia ve ark. 2013).

Ayrıca kararlı bis-phen kompleksleri DNA ya da RNA polimeraz aktivitesini inhibe eder. Bu indirgeyici ajanların karşısında DNA'nın zincir ayrılımı görülür (Chikira ve ark. 2002, Jungwirth ve ark. 2011).

Bakır-fenantrolin varlığındaki DNA hasarı, bölgeye özel fenton reaksiyonlarıyla üretilen reaktif hidroksil radikallerine dayanmaktadır (Tardito ve Marchio 2009, Jia ve ark. 2010). Fenantrolinli bakır II komplekslerinin farmakolojik özellikleri, Schiff bazı ve 1,10 fenantrolinle ya da onun türevleri ile azaltılmış üçlü bakır II komplekslerinin antitümör potansiyelinin çalışılmasına izin verir.

2.9. Protein Metabolizması ve Kanser

Yapılarında azot bulundurmaları proteinleri diğer biyoorganik moleküllerden ayırır. Kanser hücresi, sağlıklı hücrenin azotuyla beslenir ve bu durum sebebiyle hastalarda kas ve total vücut proteinlerinde azalmalar görülür. İskelet kasında meydana gelen proteoliz sonucunda aminoasitlerin çoğu, karaciğerde akut faz proteinleri sentez edilmesinde kullanılır. Bu yüzden iskelet kasında protein sentezi için gereken bazı aminoasitlerde rölatif eksiklik görülür. Aminoasitlerin bir diğer kısmı da deaminasyona uğrayıp katabolize edilir ve iki farklı ürün meydana gelir. Ürünlerden biri olan karbon iskeletleri (ketoasit) glikoneogenezde kullanılmak üzere karaciğere yollanır. Glikoneogenez, kısa dönemde faydalı iken, uzun dönemde (kanser gibi), hücrede aşırı enerji kaybına yol açmasından dolayı zararlı olabilmektedir. İkinci ürün olan azot (amino grubu) ise; atılır ve bu yüzden negatif azot dengesi meydana gelir. Negatif dengenin diğer bir sebebi ise, tümör hücrelerinin, serbestleşen azotları yakalaması, kendi ihtiyacı olan aminoasit ve protein sentezi için kullanmasıdır. Üre döngüsü de kanserde çeşitli değişikliklere uğrar. Normal şartlarda üre döngüsünde amaç, vücudun zararlı azot olan amonyağı atmasıdır. Kanseri bir organizmada negatif azot dengesi var olduğundan üre döngüsü yavaşlar (Erdamar ve ark. 2015).

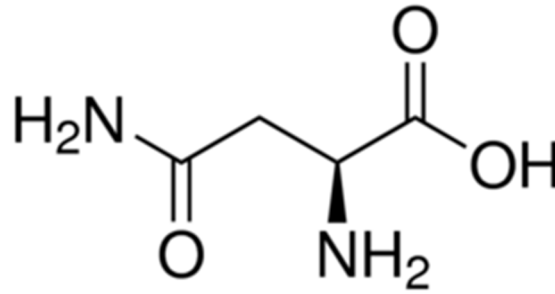
Malign tümör varlığında genelde negatif azot dengesi (Brennan ve Burt 1981), artan glukoneogenez (Gold 1974, Waterhouse ve ark. 1979), azalan kas protein sentezi (Lundholm ve ark. 1978, Norton ve ark. 1981), artan kas protein yıkımı (Norton ve ark. 1981) görülür. Tümör gelişimi sırasında sonuç olarak protein turnover artar (Carmichael ve ark. 1980, Eden ve ark. 1984, Jeevanandam ve ark. 1984). Plazma aminoasitlerinin seviyeleri vücuttaki aminoasit akışını etkileyen faktörleri net olarak gösterir (Abumrad ve Miller 1983). Bu amaçla hastalardaki aminoasit profili, kanser ve protein metabolizması arasındaki ilişki için bir marker rolü üstlenebilir.

2.10. Asparajin Aminoasidinin Biyolojideki Yeri ve Kanslerle İlişkisi

Kuşkonmaz bitkisinin yemeklerde kullanılan türü olan *Asparagus officinalis* bitkisinden adını alan asparajin aminoasidi (Asn,N), proteinleri oluşturan 20 aminoasitten biridir. Yan zincirinde karboksamit grubu vardır, polar özellik gösterir fakat fizyolojik pH'da yüksüzdür. Diğer aminoasitlerde olduğu gibi asparajin aminoasidinin de hem L- hem de D- izomeri vardır. Doğada bulunanı L-asparajindir.

L-asparajin baklagillerin fidanlarında, kuşkonmaz bitkisinde, patatesten, sığır etinde ve yumurtada bulunur. Özellikle merkezi sinir sisteminin dengesinin korunmasında önemlidir.

Tümör hücreleri canlılıklarını devam ettirebilmek, enerji sağlayabilmek için sağlıklı hücrelerden kendi azot ihtiyacını karşılamaktadır. Bu sebeple vücutta bazı aminoasitler kanser hücresinin tipine göre azalma göstermektedir. Proenza ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, meme kanseri olan hastalar sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında hastaların plazmalarında valin ve glutamat miktarının düşük, asparajin miktarının ise yüksek olması dışında bir fark göstermediğini saptamışlardır. Akciğer kanserli hastaların plazmalarında ise glutamin, asparajin ve hidroksiprolin yüksek; aspartat düşük bulunmuştur (Proenza ve ark. 2003).



Şekil 2.3. (L-asparajin)

3. MATERYAL-YÖNTEM

Bu çalışmada besiyerinde çözünebilen, polimerik yapılı bir yeni bakır kompleksinin, [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin) (L-asparajin)] ClO₄’n A549 insan akciğer kanseri hücre hattı, Beas-2B insan sağlıklı bronş epitel hücre hattı, MCF7 insan meme kanseri hücre hattı ve Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattında XTT testi ile sitotoksik etkileri belirlenmiştir. Bakır kompleksinin genotoksik etkileri ise komet testi ile değerlendirilmiştir. Hücre içi ROS seviyesi ROS testi ile değerlendirilmiştir.

3.1. Kullanılan Ekipmanlar, Sarf Malzemeler

Çalışmada kullanılan cihazlar Çizelge 3.1’de, sarf malzemelerine ilişkin bilgiler ise Çizelge 3.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan ekipman

| Ekipman | Marka/Model |
|--------------------------|--------------------------|
| Etüv | BINDER – CB 150 |
| Soğutmalı santrifüj | SIGMA-2-16PK |
| Laminar akım kabini | BERNER |
| Hassas terazi | SHIMADZU-AUW220D |
| Kaba terazi | RADWAG-WTB2000 |
| Pastör fırını | Elektro.mag-M3025P |
| İnvert mikroskop | SOIF |
| Floresan mikroskop | NIKON-ECLIPSE 80i |
| Işık mikroskobu | NIKON-ECLIPSE E100 |
| Komet yazılımı | Kameram 21 |
| Elektroforez güç kaynağı | PeqLab-Reqpower 300 |
| Elektroforez tankı | Cleaver Scientific |
| Mikroplaka okuyucu | Bio Tek, ELx800 U.S.A |
| Azot tankı | INT. CRYOGENICS – IC 20R |
| Ph metre | HANNA – HI 221 |
| +4 buzdolabı | REGAL |
| -20 derin dondurucu | ALASKA – ADF 06 V |
| -80 derin dondurucu | ELCOLD |

| | |
|---------------------|------------------------|
| Karıştırıcı-ısıtıcı | M TOPS MS300HS |
| Hücre sayım cihazı | CEDEX XS |
| Distile su cihazı | MP MINI PURE – DEST UP |
| Su banyosu | NÜVEBATH NBS |

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler

| Sarf Malzeme | Firma/Katalog No |
|--|---|
| Serolojik pipet | COSTAR |
| Serolojik pipet tabancası | BIOHIT-MIDI PLUS/ Dragon MED Levo plus |
| Steril 15 ml’lik tüpler | ISOLAB |
| Steril flasklar (T-12,5, T-25 ve T-75) | NEST BIOTECHNOLOGY |
| RPMI-1640 (500 ml) | PAN BIOTECH/ P04-22100 |
| Penisilin-Streptomisin | SIGMA/ P0781 |
| L-Glutamin (100 ml) | SIGMA/ RNBB4386 |
| Fetal-Bovine serum | PANBIOTECH/ P30-1985 |
| Sodyum pirüvat (100 ml) | PANBIOTECH/ P04-43100 |
| EDTA disodium salt | CARLO ERBA/ 303201 |
| DPBS | PANBIOTECH/ P04-36500 |
| Etanol | MERCK |
| NaCl | MERCK/ 7647-14-5 |
| NaOH | SIGMA/ S8045-1 KG |
| Triton X-100 | GERBU/ 34021300 |
| Lowmelting Agaroz | SIGMA/ A9414-25G |
| Normal Agaroz | SIGMA/ A9539-100G |
| DMSO | MERCK/ K39661843 |
| Tripsin-EDTA | GIBCO/ 1304898 |
| DCFH-DA (ROS Kit) | Cell Biolabs’OxiSelect™ / 59342021 |
| Hücre proliferasyon kiti | BIOLOGICAL INDUSTRIES/1548576 |

3.2. Kullanılacak Hücre Hatları

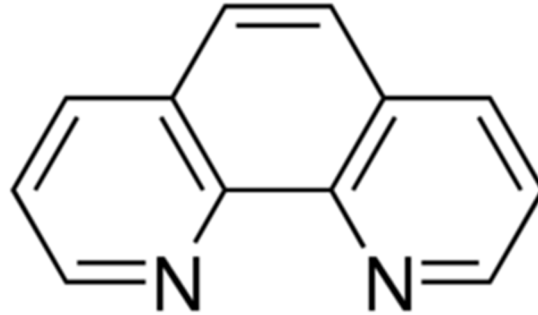
Tez çalışmasında A549 insan akciğer kanseri hücre hattı, Beas-2B insan sağlıklı bronşiyal epitel hücre hattı, MCF7 insan meme kanseri hücre hattı ve Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı kullanılmıştır.

3.2.1. Bu hücre hatlarında kullanılacak hücre kültürü şartları

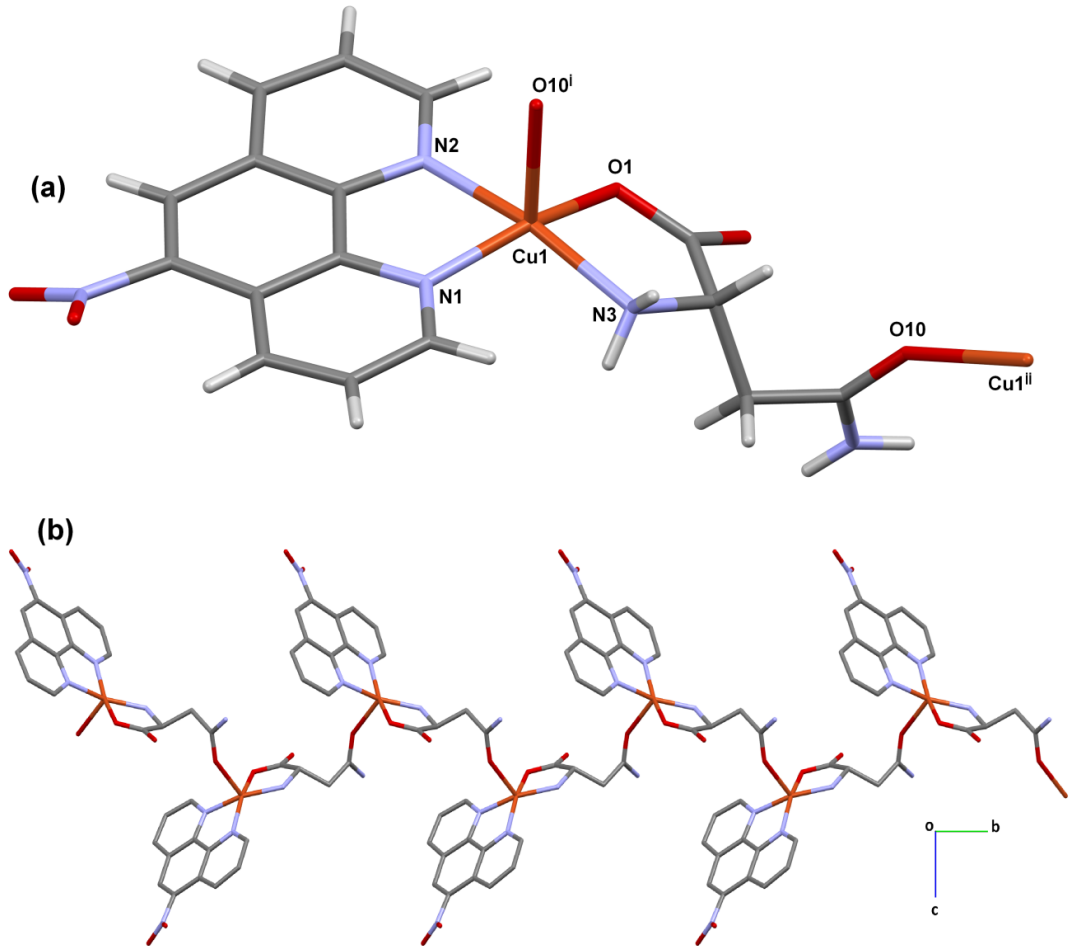
Hücre kültürü havalandırılmalı T75 flasklar içinde 37 °C ve %5 CO₂ ortama sahip inkübatörde yapılmıştır. Flasklara konulacak besiyeri: 500 ml RPMI Medium + 60 ml FBS (fetal bovine serum) + 3 ml L- glutamine, 6 ml penisilin-streptomisin, 6 ml sodyum pirüvattan oluşmaktadır.

3.3. Kullanılan Kompleks

Bu çalışmada hazır besiyerinde çözünebilen, polimerik yapılı bir yeni bakır kompleksi [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin) (L-asparajin)] ClO₄ kullanılmıştır. Kompleks, Uludağ Üniversitesi Anorganik Kimya Anabilim Dalı tarafınca sentezlenmiştir. Bu bakır kompleksinin yapısına katılan ligant ve bakır kompleksinin kristal ve polimer yapısı aşağıda gösterilmiştir (şekil 3.1; 3.2). Kompleks hazır besiyerinde çözülmüştür.



Şekil 3.1. 1,10 fenantrolin



Şekil 3.2. (a) $[\text{Cu}(\text{5-nitro-1,10-fenantrolin})(\text{L-asparagin})]\text{ClO}_4)_n$ kristal yapısı b) $[\text{Cu}(\text{5-nitro-1,10-fenantrolin})(\text{L-asparagin})]\text{ClO}_4)_n$ kompleksinin 1D polimer yapısı

3.4. XTT Testi

XTT bir sitotoksosite testidir. Sitotoksosite; moleküler olaylar sonucu çeşitli makromoleküllerin sentezlenmesinin engellenmesi ve buna bağlı olarak hücrenin fonksiyonlarında ve yapısında belirgin hasarlar meydana gelmesidir. Sitotoksosite testleri ise, hücrelerde meydana gelen bu olayların varlığının tespit edilmesi ve hücrelerde ne ölçüde hasar meydana getirdiğinin saptanması esasına dayanır.

Sitotoksosite testleri sayesinde toksik konsantrasyon aralığının tanımlanabilmesi, maruz kalma-konsantrasyon ilişkisinin belirlenmesi ve antikanser aktivitenin tahmin edilebilmesi gibi durumlar mümkündür. XTT testinin esası, XTT ayracında bulunan tetrazolium halkasının canlı hücre mitokondrilerinde bulunan dehidrogenaz enzimlerince parçalanarak kırmızı renkli formazan kristalleri oluşturmaya dayanmaktadır.

XTT Testi Protokolü

Hücrelerin 75 cm²'lik flasklarda 1 hafta boyunca büyümesi beklenmiştir. Büyüyen hücreler 96 kuyucuklu plakelere ekilmiştir. A549 ve Beas-2B hücre hatları için her bir kuyucuğa 5×10³ hücre, MCF-7 ve CaCo-2 hücre hatları için her bir kuyucuğa 8×10³ hücre ve yine her bir kuyucuğa 200'er µl besi yeri konulmuştur. 37 °C ve %5 CO₂ ortamlı inkübatörde 24 saat inkübe edildikten sonra besi yeri değiştirilmiştir ve bakır kompleksinin 0,1 ile 25,6 µM arasında değişen farklı konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. 24 saatlik muameleden sonra kuyucuklar PBS ile yıkanmış ve 100 µL yeni besiyeri eklenmiştir. Her bir kuyucuğa aktive olmuş XTT solüsyonu eklenmiş ve 3 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda mikropilaka okuyucu ile 450nm'de absorbans ölçülmüştür ve poliferasyon eğrisi çizilmiştir. Blankler çıkarıldıktan sonra IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları (1- A muamele grubu / A kontrol) x100 formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Y eksenine doz, X eksenine canlılık olan dağılım eğrisi çizilmiştir. Daha sonra grafik üzerinde doğrusal 3 nokta seçilerek eğilim çizgisi eklenmiştir. Eğilim çizgisinin formülünde y yerine 12,5, 25, 50 ve 75 yazılarak sırası ile IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları hesaplanmıştır.

Kimyasalların Hazırlanması:

1. Kimyasallar deneyden hemen önce 37 °C'de ısıtılarak eritilmiştir.
2. XTT ölçüm solüsyonunu hazırlamak için XTT kimyasalına 1:50 hacim oranında elektron bağlama solüsyonu eklenmiştir. Örneğin 96 kuyucuklu plaketeye 5000 µl XTT solüsyonu için 100 µl aktive edici ajana ihtiyaç duyulmaktadır.

3.5. Komet Testi

Komet bir genotoksisite testidir. Genotoksisite, çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anomalileri gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir.

Genotoksisite testleri, kimyasal ve fiziksel ajanların mutajenitelerinin belirlenmesi ve bu ajanların karsinojenik potansiyellerinin belirlenmesi için kullanılmaktadır. Kanserden korunmada, kansere duyarlılığın tayininde ve takibinin yapılmasında biyoizlem testleri olarak kullanılmaktadır. Komet, DNA parçalarının elektrik akımı doğrultusunda hücreden çıkarak ilerlemesi (kuyruk oluşturması) ilkesine dayanır.

Komet Testi Protokolü

Hücreler 25 cm²'lik flasklara bölünmüş ve çoğalması için inkübatörde bekletilmiştir. Çoğalan hücreler IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozlarında bakır kompleksi ile 24 saat muamele edilmiştir. Dozlanan hücreler 24 saat sonra tripsinlenerek kaldırılmıştır ve santrifüj edilmiştir.

- 1) Bu aşamada kullanılan bütün solüsyonlar soğuktur. Bu prosedür karanlıkta gerçekleştirilmelidir. Süpernatant kısmı atıldıktan sonra kalan hücreler 1 ml PBS ile seyreltilmiş ve iyice karıştırılmıştır.
- 2) Hücreleri jel içine gömmek için, düşük erime noktalı agaroz (LMA) kullanılmıştır. 0,065 gr LMA tartılmış ve 10 ml PBS içinde ısıtılarak jel haline getirilmiştir.
- 3) Eppendorf tüplere 250'şer µL LMA aktarılmıştır. Bu eppendorf tüpler 37 °C de bekleyen sıcak su banyosuna yerleştirilmiştir.
- 4) Hücre pelletlerinden 100 µl çekilmiş, su banyosunda bekleyen ve içinde 250µl LMA jeli bulunan eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Jel ve hücre süspansiyonu pipetaj yoluyla karıştırılmıştır.
- 5) Bu karışımdan 80 µl çekilmiş ve lam üzerine yayılmıştır. Her çalışma grubu kendi lamının üzerine yayılmıştır.
- 6) Üzerine karışım koyulan lamlar hemen lamelle kapatılmış ve buz üzerine kaldırılmıştır.

- 7) Yayma işlemi bittikten sonra lamalar 15 dakika +4 °C de bekletilmiştir.
- 8) 2 dakika sonra lamalar üzerindeki lameller çıkarılmıştır.
- 9) Lamelleri çıkmış olan lamalar şalelere dizilmiş ve şaleler lizis solüsyonu ile doldurulmuştur. Lamalar şaleler içinde 1 gece boyunca karanlıkta ve +4 °C de bekletilmiştir.
- 10) Ertesi gün lamalar lizis solüsyonundan çıkarılmış ve elektroforez tankına dizilmiştir.
- 11) Tanklar elektroforez tamponu ile doldurulmuş ve 30 dk elektroforez tamponu içinde akım verilmeden bekletilmiştir.
- 12) Yürütme işlemi 500 mA, 25V'da, yarım saatte gerçekleştirilmiştir.
- 13) Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra lamalar tanktan çıkarılıp nötralizasyon tamponuna daldırılmıştır ve 5 dakika lamalar tampon içerisinde karanlıkta bekletilmiştir.
- 14) Nötralizasyon işlemi sonrasında lamalar tampondan çıkarılıp soğuk distile suya daldırılıp yıkanmış ve kuruması beklenmiştir.
- 15) Kuruduktan sonra lamalar absöü etanol içinde 5 dakika fikse edilmiştir.

Boyama İşlemi

20 µg/ml konsantrasyonlu EtBr boya solüsyonundan enjektör ile 0,2 ml çekilir ve lamlara damlatılır. Boya damlatıldıktan sonra lamalar lamellerle kapatılıp, mikroskopik inceleme için hazırlanır.

Lamların mikroskopta incelenmesi

Sayım ve değerlendirme aşamalarında floresan mikroskop kullanılmıştır. Boyanılan lamlara mikroskopta bakılmış ve her lamdan 100 tane hücre sayılmıştır. Değerlendirme kameram 21 komet sayım programı ile yapılmıştır. DNA hasarı; kuyruk uzunluğu, kuyruk % DNA ve Olive kuyruk momenti parametreleri ile değerlendirilmiştir. Test iki bağımsız tekrar halinde yapılmıştır.

3.6. ROS Ölçümü

Bakır kompleksinin hücre içi ROS oluşumuna etkisi DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate) maddesinin RPMI mediumda çözülmesi ile değerlendirilmiştir. DCF-DA boyası kendisi floresan özellik göstermemektedir. Hücre içine difüzyonla girmektedir. Hücresel esterazlar tarafından DCFH şekline hidrolize olmaktadır. DCFH ise ROS varlığında hızlı şekilde oksidize olmakta ve yüksek seviyede floresan etkisi olan 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCF) haline gelmektedir.

ROS Testi Protokolü

ROS testi için hücreler 75 cm²'lik flasklarda üretilmiştir. Büyüyen hücreler 96 kuyucuklu siyah plakelere iki tekrarlı şekilde ekilmiştir ve 24 saat inkübe edilmiştir. Kültür sonunda besi yeri değiştirildikten sonra hücreler 2 kez PBS ile yıkanmıştır. Hücrelere 1X DCFH-DA/besiyeri çözeltisinden 100'er µl eklenmiş ve 37 °C'de 120 dk inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda hücreler 2 kez PBS ile tekrar yıkanmıştır. DCFH-DA yüklenmiş hücrelere 2 saat bakır kompleksinin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile muamele edilmiştir. H₂O₂'nin IC₅₀ konsantrasyonu pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Konsantrasyonu 0 µM – 10 µM arasında değişen DCF standartlarının 1:10 seyreltme serisi DCF stok solüsyonunun besi yeri ile seyreltilmesi ile hazırlanır (tüp dilüsyon yöntemi). DCF stoğundan 10 µl alınıp 990 µl RPMI medium bulunan 1 numaralı standarta eklenir ve daha sonra standart 1'den diğer standartlara zincirleme şekilde 100'er µl alınıp seyreltme işlemi yapılır. Absorbansı 480 nm/530 nm'de florometrik plaka okuyucuda plakeler 24 saat belirli aralıklarla okunmuştur. ROS değerleri çizilen dağılım grafiğinin eğim formülü ile hesaplanmıştır. Deney iki tekrarlı şekilde gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS 23 paket program kullanılarak Mann-Withney U testi ile yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. XTT Bulguları

XTT testinden elde edilen bulgular Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Bakır (II) kompleksinin ([Cu(5-nitro-1,10-fenantrolin)(L-asparagin)]ClO₄)_n 0,1 ve 25,6 µM arasında değişen konsantrasyonları A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 24 saat muamele edilmiştir. Kompleksin bu hücre hatlarına IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları verilmiştir.

4.1.1. A549 hücre hattında elde edilen XTT bulguları

A549 hücre hattının bakır (II) kompleksiyle 24 saat muamelesi sonucu elde edilen IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri sırasıyla; 1,063 ± 0,044 µM, 2,127 ± 0,179 µM, 4,254 ± 0,359 µM ve 6,381 ± 0,538 µM'dır. A549 hücre hattının XTT testinden elde edilen bulgular çizelge 4.1 ve şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

4.1.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen XTT bulguları

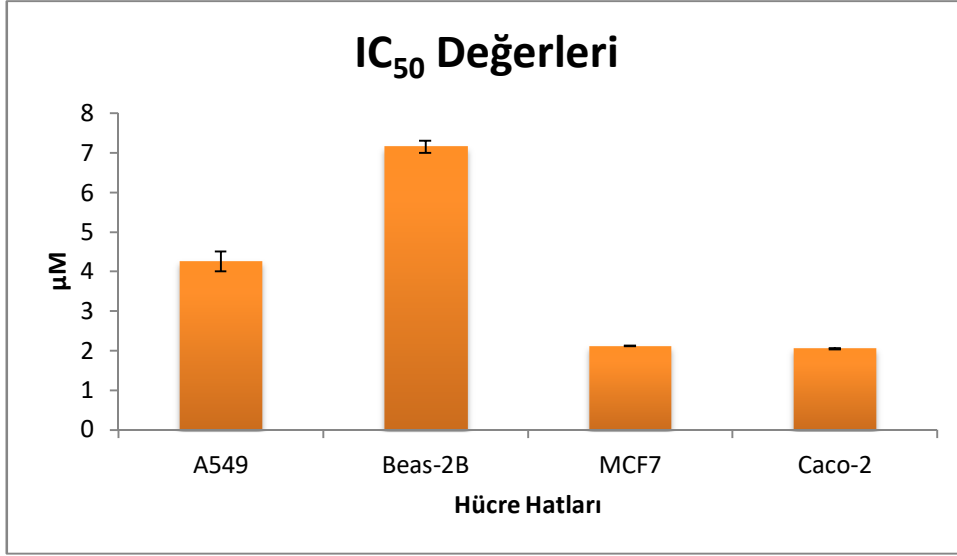
Beas-2B hücre hattının bakır (II) kompleksiyle 24 saat muamelesi sonucu elde edilen IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri sırasıyla; 1,789 ± 0,278 µM, 3,578 ± 0,620 µM, 7,157 ± 0,220 µM ve 10,735 ± 0,544 µM'dır. Beas-2B hücre hattının XTT testinden elde edilen bulgular çizelge 4.1 ve şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

4.1.3. MCF7 hücre hattında elde edilen XTT bulguları

MCF7 hücre hattının bakır (II) kompleksiyle 24 saat muamelesi sonucu elde edilen IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri sırasıyla; 0,525 ± 0,135 µM, 1,05 ± 0,127 µM, 2,1 ± 0,014 µM ve 3,15 ± 0,035 µM'dır. MCF7 hücre hattının XTT testinden elde edilen bulgular çizelge 4.1 ve şekil 4.1.'de gösterilmiştir.

4.1.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen XTT bulguları

Caco-2 hücre hattının bakır (II) kompleksiyle 24 saat muamelesi sonucu elde edilen IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ değerleri sırasıyla; 0,512 ± 0,080 µM, 1,025 ± 0,063 µM, 2,05 ± 0,026 µM ve 3,075 ± 0,210 µM'dır. Caco-2 hücre hattının XTT testinden elde edilen bulgular çizelge 4.1 ve şekil 4.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hattında kullanılan bakır (II) kompleksinin µM cinsinden IC₅₀ değerleri

Çizelge 4.1. Bakır (II) kompleksinin A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarında IC₇₅, IC₅₀, IC₂₅ ve IC_{12,5} değerleri, ±; standart sapmayı ifade etmektedir

| Dozlar | Hücre Hatları | | | |
|--------------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| | A549 | Beas-2B | MCF7 | Caco-2 |
| IC _{12,5} | 1,063 ± 0,044 | 1,789 ± 0,278 | 0,525 ± 0,135 | 0,512 ± 0,080 |
| IC ₂₅ | 2,127 ± 0,179 | 3,578 ± 0,620 | 1,05 ± 0,127 | 1,025 ± 0,063 |
| IC ₅₀ | 4,254 ± 0,359 | 7,157 ± 0,220 | 2,1 ± 0,014 | 2,05 ± 0,026 |
| IC ₇₅ | 6,381 ± 0,538 | 10,735 ± 0,544 | 3,15 ± 0,035 | 3,075 ± 0,210 |

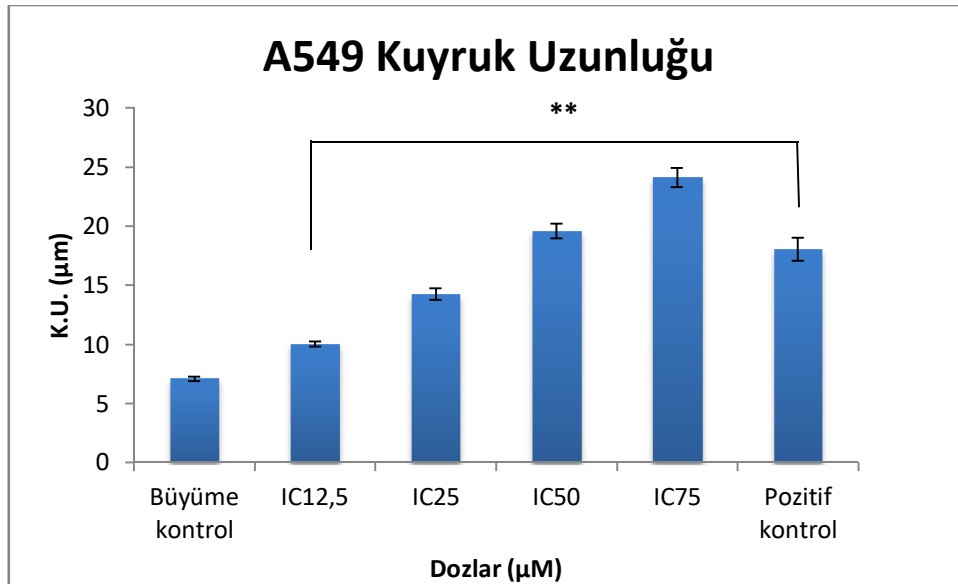
4.2. Komet Testi Bulguları

4.2.1. Kuyruk uzunluğu bulguları

Bakır (II) kompleksinin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarının 24 saat muamele edilmesi sonucunda elde edilen kuyruk uzunluğu değerleri çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Veriler normal dağılım göstermediğinden kuyruk uzunluğu değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır.

4.2.1.1. A549 hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları

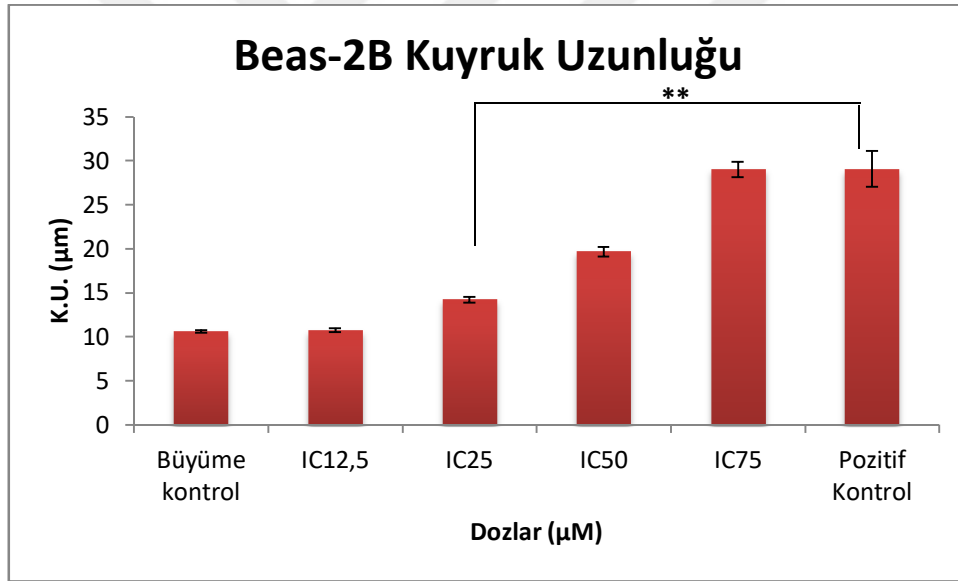
A549 hücre hattında ortalama kuyruk uzunluğu kontrol grubunda $7,108 \pm 2,739$ olarak belirlenmiştir. A549 hücre hattına bakır (II) kompleksinin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla; $10,046 \pm 3,226$, $14,256 \pm 6,550$, $19,578 \pm 8,809$ ve $24,104 \pm 11,279$ şeklindedir. A549 hücre hattına ait kuyruk uzunluğu bulguları şekil 4.2.'de ve çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Kompleksin IC₇₅ (6,381 μ M), IC₅₀(4,254 μ M), IC₂₅(2,127 μ M) ve IC_{12,5}(1,063 μ M) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her dört dozun da doz artışına göre ortalama kuyruk uzunluğu değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.2. A549 hücre hattının bakır kompleksinin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.2.1.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları

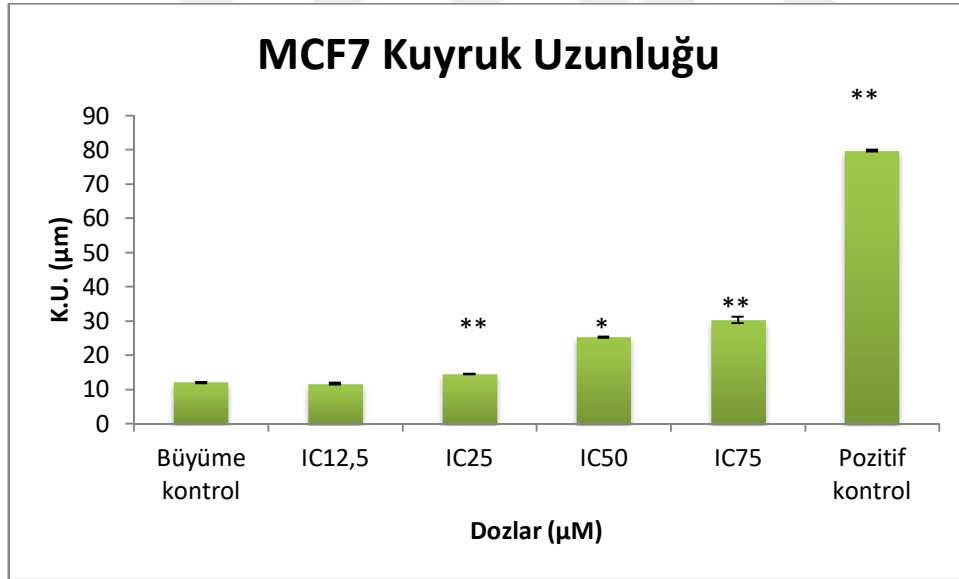
Beas-2B hücre hattında ortalama kuyruk uzunluğu kontrol grubunda $10,591 \pm 2,014$ olarak belirlenmiştir. Beas-2B hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla; $10,746 \pm 2,979$, $14,214 \pm 4,312$, $19,667 \pm 7,605$ ve $29,015 \pm 12,698$ şeklindedir. Beas-2B hücre hattına ait kuyruk uzunluğu bulguları şekil 4.3.'te ve çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} ($10,735 \mu M$), IC_{50} ($7,157 \mu M$) ve IC_{25} ($3,578 \mu M$) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç dozun da ortalama kuyruk uzunluğu değerini doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). $IC_{12,5}$ ($1,789 \mu M$) dozunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri, kontrol grubunun ($10,591 \pm 2,014$) ortalama kuyruk uzunluğu değerine göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde artış göstermemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.3. Beas-2B hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.2.1.3. MCF7 hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları

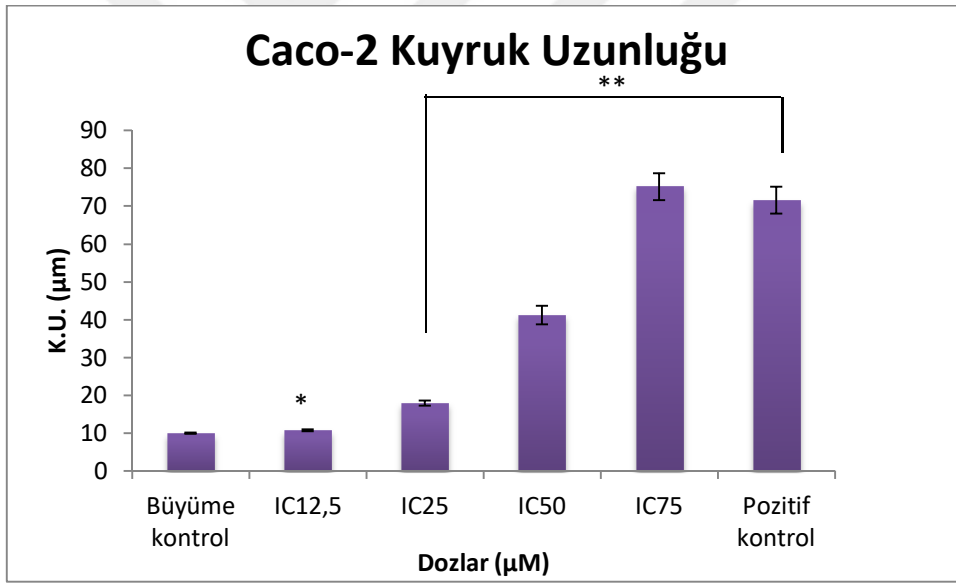
MCF7 hücre hattında ortalama kuyruk uzunluğu kontrol grubunda $12,037 \pm 2,609$ olarak belirlenmiştir. MCF7 hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla; $11,614 \pm 3,852$, $14,449 \pm 1,740$, $25,287 \pm 3,417$ ve $30,282 \pm 13,172$ şeklindedir. MCF7 hücre hattına ait kuyruk uzunluğu bulguları şekil 4.4.'te ve çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} ($3,15 \mu M$) ve IC_{25} ($1,05 \mu M$) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki dozun da ortalama kuyruk uzunluğu değeri doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p \leq 0,001$). IC_{50} ($2,1 \mu M$) dozunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ($12,037 \pm 2,609$) ile karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p \leq 0,05$). Büyüme kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ($12,037 \pm 2,609$) ile $IC_{12,5}$ ($0,525 \mu M$) dozuna ait ortalama kuyruk uzunluğu değeri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.4. MCF7 hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$; * $p \leq 0,05$

4.2.1.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen kuyruk uzunluğu bulguları

Caco-2 hücre hattında ortalama kuyruk uzunluğu kontrol grubunda $10,014 \pm 2,424$ olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerleri sırasıyla; $10,818 \pm 3,307$, $17,987 \pm 10,133$, $41,191 \pm 34,932$ ve $75,217 \pm 49,888$ şeklindedir. Caco-2 hücre hattına ait kuyruk uzunluğu bulguları şekil 4.5.'te ve çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. Kompleksin $IC_{75}(3,075 \mu M)$, $IC_{50}(2,05 \mu M)$ ve $IC_{25}(1,025 \mu M)$ dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç dozun da ortalama kuyruk uzunluğu değeri doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p \leq 0,001$). $IC_{12,5}(0,512 \mu M)$ dozunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri, kontrol grubu ortalama kuyruk uzunluğu değerine ($10,014 \pm 2,424$) göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir. ($p \leq 0,05$).



Şekil 4.5. Caco-2 hücre hattının bakır kompleksinin IC_{75} , IC_{50} , IC_{25} ve $IC_{12,5}$ dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk uzunluğu değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$; * $p \leq 0,05$

Çizelge 4.2. Kompleksin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk uzunluğu değerlerinin (µm), ±; standart hatayı ifade etmektedir, büyüme kontrol ile karşılaştırılması; **p≤ 0,001; *p≤ 0,05, (BK: büyüme kontrol, PK: pozitif kontrol)

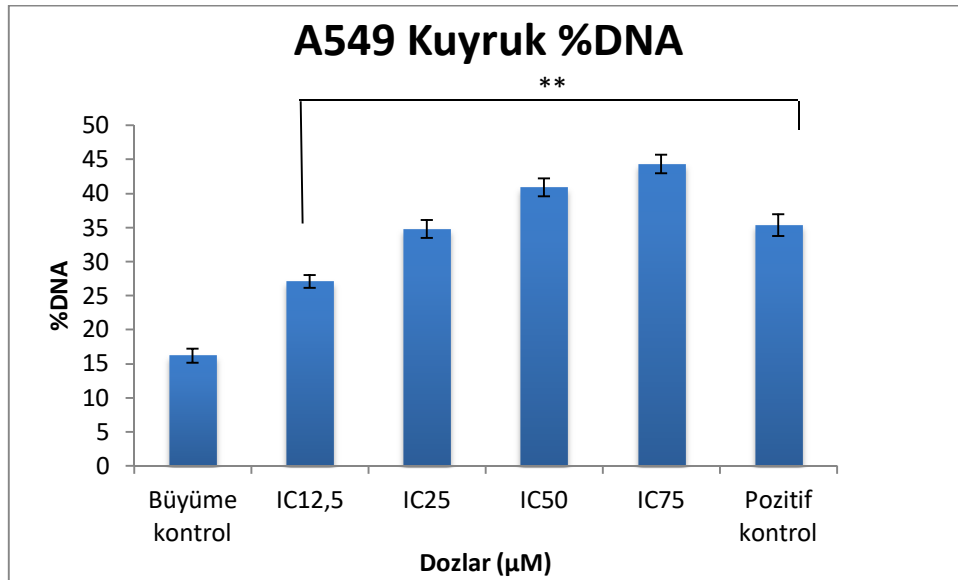
| Dozlar | Hücre Hatları | | | |
|--------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| | A549 | Beas-B | MCF7 | Caco-2 |
| BK | 7,108 ± 2,739 | 10,591 ± 2,014 | 12,037 ± 2,609 | 10,014 ± 2,424 |
| IC _{12,5} | 10,046 ± 3,226 ** | 10,746 ± 2,979 | 11,614 ± 3,852 | 10,818 ± 3,307 * |
| IC ₂₅ | 14,256 ± 6,550** | 14,214 ± 4,312** | 14,449 ± 1,740** | 17,987 ± 10,13** |
| IC ₅₀ | 19,578 ± 8,809** | 19,667 ± 7,605** | 25,287 ± 3,417* | 41,191 ± 34,93** |
| IC ₇₅ | 24,104 ± 11,27** | 29,015 ± 12,69** | 30,282 ± 13,17** | 75,217 ± 49,88** |
| PK | 18,051 ± 13,951 | 29,082 ± 28,629 | 79,778 ± 4,162 | 71,597 ± 49,467 |

4.2.2. Kuyruk %DNA bulguları

Bakır (II) kompleksinin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarının 24 saat muamele edilmesi sonucunda elde edilen kuyruk %DNA değerleri çizelge 4.3.'te gösterilmiştir. Veriler normal dağılım göstermediğinden kuyruk uzunluğu değerlerinin istatistiksel analizi Mann-Whitney U testi kullanılarak yapılmıştır.

4.2.2.1. A549 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları

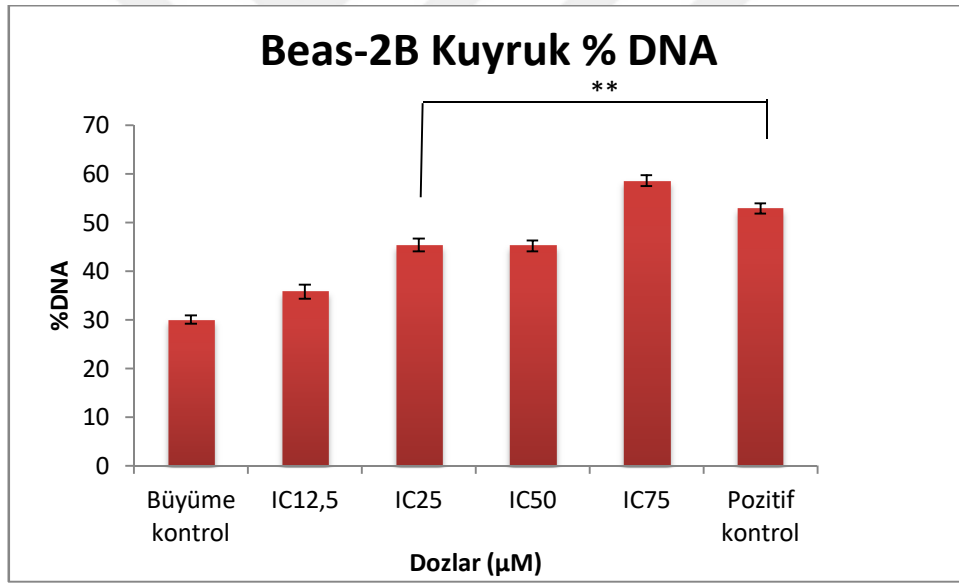
A549 hücre hattında kuyruk %DNA ortalama değeri kontrol grubunda $16,176 \pm 14,849$ olarak belirlenmiştir. A549 hücre hattına bakır (II) kompleksinin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla; $27,085 \pm 13,033$, $34,818 \pm 18,453$, $40,896 \pm 19,143$ ve $44,318 \pm 19,155$ şeklindedir. A549 hücre hattına ait kuyruk %DNA bulguları şekil 4.6.'da ve çizelge 4.3.'te gösterilmiştir. Kompleksin IC₇₅ (6,381 μ M), IC₅₀(4,254 μ M), IC₂₅(2,127 μ M) ve IC_{12,5}(1,063 μ M) dozları kontrol grubu($16,176 \pm 14,849$) ile karşılaştırıldığında her dört dozun da ortalama kuyruk %DNA değerini doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.6. A549 hücre hattının bakır kompleksinin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.2.2.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları

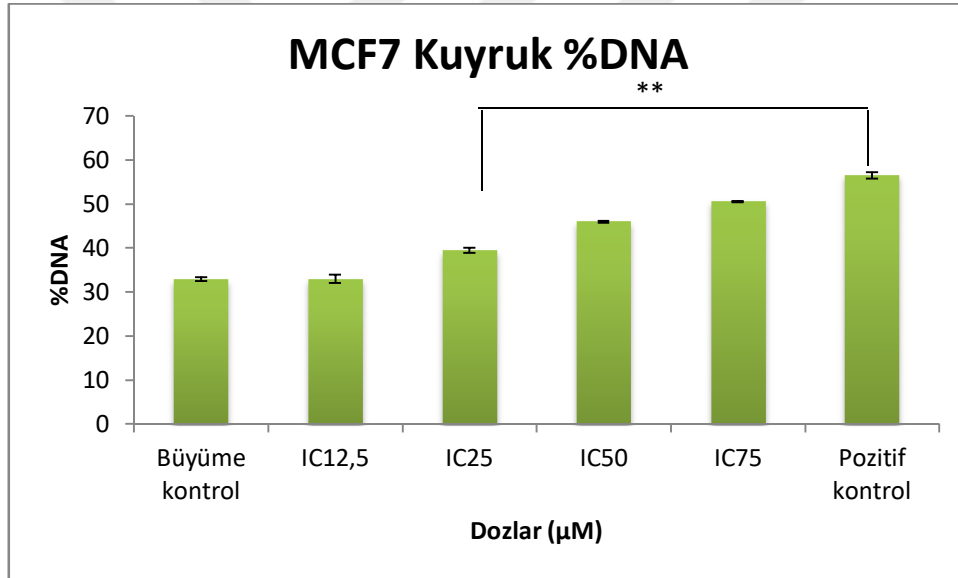
Beas-2B hücre hattında ortalama kuyruk %DNA kontrol grubunda $30,039 \pm 12,082$ olarak belirlenmiştir. Beas-2B hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla; $35,766 \pm 21,189$, $45,373 \pm 18,154$, $45,212 \pm 15,988$ ve $58,593 \pm 16,302$ şeklindedir. Beas-2B hücre hattına ait kuyruk %DNA bulguları şekil 4.7.'de ve çizelge 4.3.'te gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} ($10,735 \mu M$), IC_{50} ($7,157 \mu M$) ve IC_{25} ($3,578 \mu M$) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç dozun da ortalama kuyruk %DNA değerini doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). $IC_{12,5}$ ($1,789 \mu M$) dozunun ortalama kuyruk %DNA değeri, kontrol grubunun ($30,039 \pm 12,082$) ortalama kuyruk %DNA değerine göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde artış göstermemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.7. Beas-2B hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.2.2.3. MCF7 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları

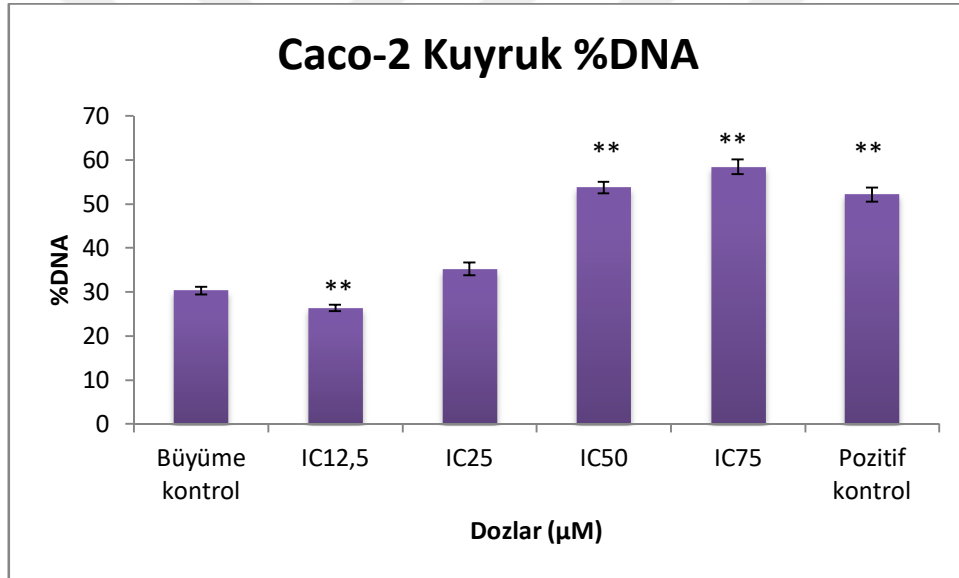
MCF7 hücre hattında ortalama kuyruk %DNA kontrol grubunda $32,905 \pm 6,713$ olarak belirlenmiştir. MCF7 hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla; $32,983 \pm 13,635$, $39,471 \pm 8,097$, $45,992 \pm 3,102$ ve $50,597 \pm 1,992$ şeklindedir. MCF7 hücre hattına ait kuyruk %DNA bulguları şekil 4.8.'de ve çizelge 4.3.'te gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} (3,15 μ M), IC_{50} (2,1 μ M), IC_{25} (1,05 μ M) dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her üç dozun da ortalama kuyruk %DNA değeri doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p \leq 0,001$). Kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ($32,905 \pm 6,713$) ile $IC_{12,5}$ (0,525 μ M) dozuna ait ortalama kuyruk %DNA değeri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.8. MCF7 hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.2.2.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen kuyruk %DNA bulguları

Caco-2 hücre hattında ortalama kuyruk %DNA kontrol grubunda $30,284 \pm 12,379$ olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerleri sırasıyla; $26,416 \pm 10,604$, $35,213 \pm 20,342$, $53,732 \pm 19,488$ ve $58,436 \pm 23,077$ şeklindedir. Caco-2 hücre hattına ait kuyruk %DNA bulguları şekil 4.9.'da ve çizelge 4.3.'te gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} ($3,075 \mu M$), IC_{50} ($2,05 \mu M$) ve $IC_{12,5}$ ($0,512 \mu M$) dozları kontrol grubu ($30,284 \pm 12,379$) ile karşılaştırıldığında her üç dozun da ortalama kuyruk %DNA değeri doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p \leq 0,001$). IC_{25} ($1,025 \mu M$) dozuna ait ortalama kuyruk %DNA değeri kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.9. Caco-2 hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin kontrol grubunun ortalama kuyruk %DNA değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

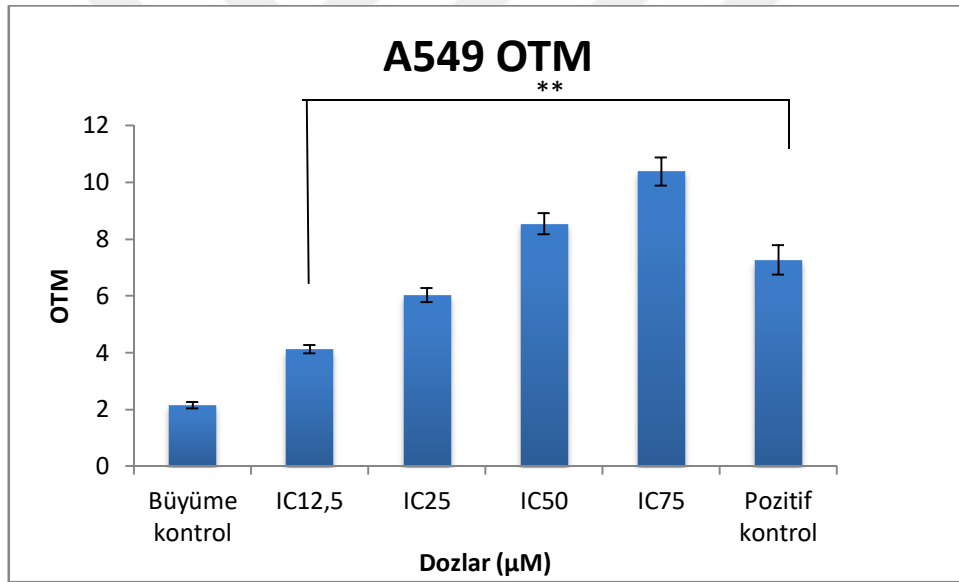
Çizelge 4.3. Kompleksin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama kuyruk %DNA değerlerinin, ±; standart hatayı ifade etmektedir, büyüme kontrol ile karşılaştırılması; **p≤ 0,001, (BK: büyüme kontrol, PK: pozitif kontrol)

| Dozlar | Hücre Hatları | | | |
|--------------------|------------------|-----------------|----------------|------------------|
| | A549 | Beas-2B | MCF7 | Caco-2 |
| BK | 16,176 ±14,849 | 30,039 ±12,082 | 32,905 ± 6,713 | 30,284 ±12,379 |
| IC _{12,5} | 27,085 ±13,033** | 35,766 ±21,189 | 32,983 ±13,635 | 26,416 ±10,604** |
| IC ₂₅ | 34,818±18,453** | 45,373±18,154** | 39,471±8,097** | 35,213 ±20,342 |
| IC ₅₀ | 40,896 ±19,143** | 45,212±15,988** | 45,992±3,102** | 53,732 ±19,488** |
| IC ₇₅ | 44,318 ±19,155** | 58,593±16,302** | 50,597±1,992** | 58,436 ±23,077** |
| PK | 35,373 ±22,309 | 52,830 ±14,761 | 56,505 ± 9,403 | 52,166 ±22,945 |

4.2.3. Olive kuyruk momenti bulguları

4.2.3.1. A549 hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları

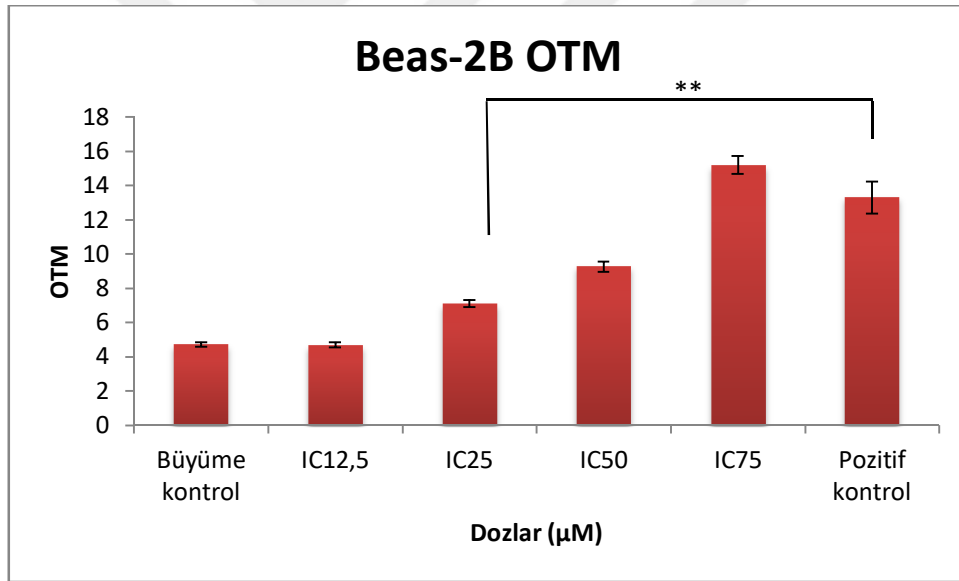
A549 hücre hattında olive kuyruk momenti ortalama değeri kontrol grubunda $2,156 \pm 1,562$ olarak belirlenmiştir. A549 hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi ile elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerleri sırasıyla; $4,125 \pm 1,982$, $6,024 \pm 3,501$, $8,542 \pm 5,307$ ve $10,385 \pm 6,940$ şeklindedir. A549 hücre hattına ait olive kuyruk momenti bulguları şekil 4.10.'da ve çizelge 4.4.'te gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} ($6,381 \mu M$), IC_{50} ($4,254 \mu M$), IC_{25} ($2,127 \mu M$) ve $IC_{12,5}$ ($1,063 \mu M$) dozları kontrol grubu ($2,156 \pm 1,562$) ile karşılaştırıldığında her dört dozun da ortalama olive kuyruk momenti değerini doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.10. A549 hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması; $**p \leq 0,001$

4.2.3.2. Beas-2B hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları

Beas-2B hücre hattında ortalama olive kuyruk momenti kontrol grubunda $4,717 \pm 1,718$ olarak belirlenmiştir. Beas-2B hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerleri sırasıyla; $4,688 \pm 2,104$, $7,110 \pm 2,730$, $9,266 \pm 4,392$ ve $15,203 \pm 7,406$ şeklindedir. Beas-2B hücre hattına ait olive kuyruk momenti bulguları şekil 4.11.'de ve çizelge 4.4.'te gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} ($10,735 \mu M$), IC_{50} ($7,157 \mu M$) ve IC_{25} ($3,578 \mu M$) dozları kontrol grubu ($4,717 \pm 1,718$) ile karşılaştırıldığında her üç dozun da ortalama olive kuyruk momenti değerini doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). $IC_{12,5}$ ($1,789 \mu M$) dozunun ortalama olive kuyruk momenti değeri, kontrol grubunun($4,717 \pm 1,718$) ortalama olive kuyruk momenti değerine göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde artış göstermemiştir ($p > 0,05$).

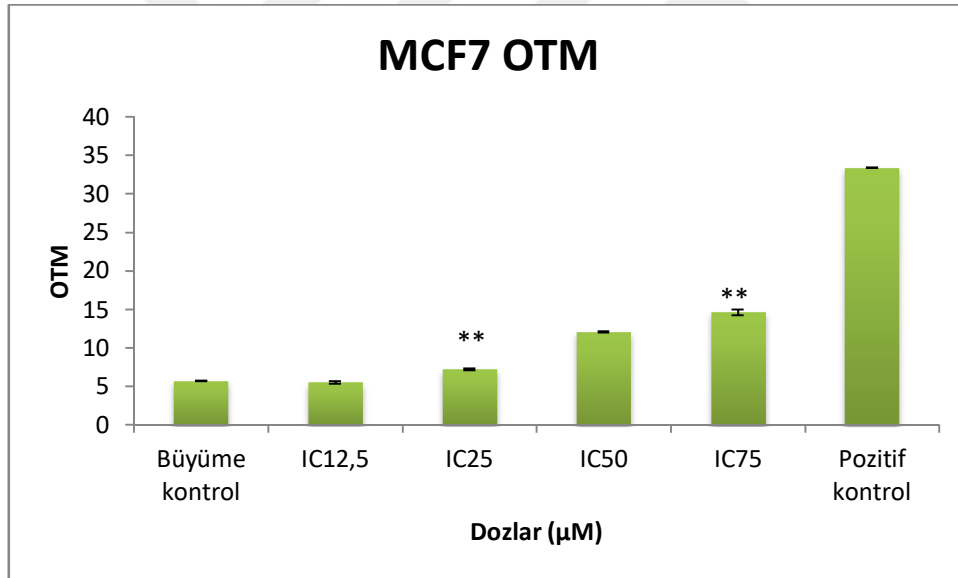


Şekil 4.11. Beas-2B hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.2.3.3. MCF7 hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları

MCF7 hücre hattında ortalama olive kuyruk momenti kontrol grubunda $5,677 \pm 0,506$ olarak belirlenmiştir. MCF7 hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerleri sırasıyla; $5,491 \pm 2,466$, $7,199 \pm 1,657$, $12,088 \pm 1,216$ ve $14,573 \pm 5,202$ şeklindedir. MCF7 hücre hattına ait olive kuyruk momenti bulguları şekil 4.12.'de ve çizelge 4.4.'te gösterilmiştir. Kompleksin $IC_{75}(3,15 \mu M)$ ve $IC_{25}(1,05 \mu M)$ dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iki dozun da ortalama olive kuyruk momenti değeri doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmiştir ($p \leq 0,001$).

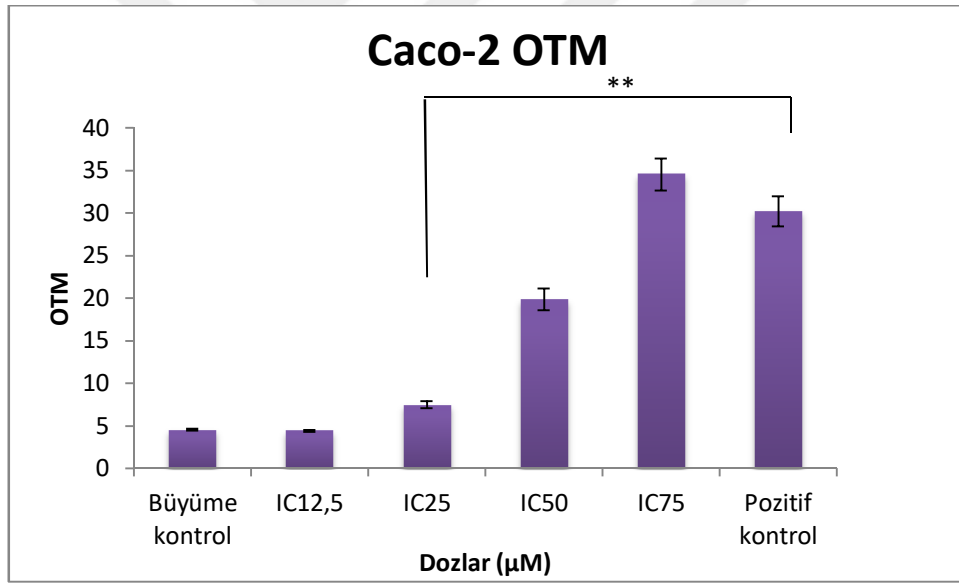
Kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ($5,677 \pm 0,506$), $IC_{50}(2,1 \mu M)$ ve $IC_{12,5}(0,525 \mu M)$ dozuna ait ortalama olive kuyruk momenti değeri arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.12. MCF7 hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması; $**p \leq 0,001$

4.2.3.4. Caco-2 hücre hattında elde edilen olive kuyruk momenti bulguları

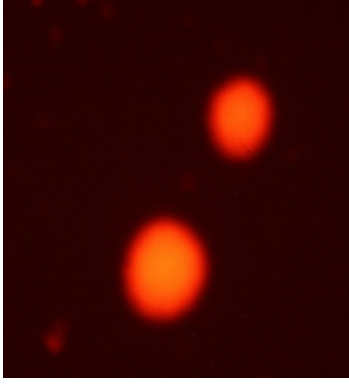
Caco-2 hücre hattında ortalama olive kuyruk momenti kontrol grubunda $4,547 \pm 1,773$ olarak belirlenmiştir. Caco-2 hücre hattına bakır (II) kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının muamelesi sonucu elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerleri sırasıyla; $4,423 \pm 1,750$, $7,483 \pm 5,454$, $19,845 \pm 18,090$ ve $34,554 \pm 26,594$ şeklindedir. Caco-2 hücre hattına ait olive kuyruk momenti bulguları şekil 4.13.'te ve çizelge 4.4.'te gösterilmiştir. Kompleksin IC_{75} ($3,075 \mu M$), IC_{50} ($2,05 \mu M$) ve IC_{25} ($1,025 \mu M$) dozları kontrol grubu ($4,547 \pm 1,773$) ile karşılaştırıldığında her üç dozun da ortalama olive kuyruk momenti değerini doz artışına göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). $IC_{12,5}$ ($0,512 \mu M$) dozuna ait ortalama olive kuyruk momenti değeri kontrol grubuna ($4,547 \pm 1,773$) göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselmemiştir ($p > 0,05$).



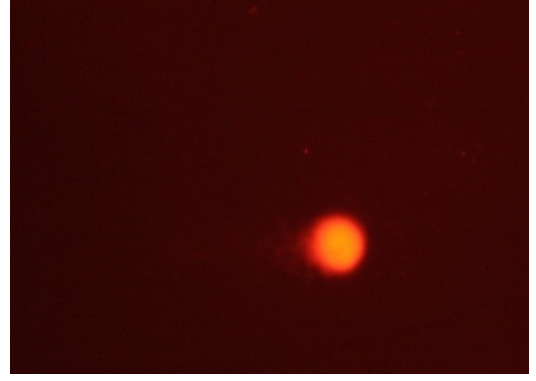
Şekil 4.13. Caco-2 hücre hattının bakır kompleksinin $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozları ile 24 saat muamelesi sonucunda elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin kontrol grubunun ortalama olive kuyruk momenti değeri ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

Çizelge 4.4. Kompleksin IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozları ile A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 24 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ortalama olive kuyruk momenti değerlerinin, ±; standart hatayı ifade etmektedir, büyüme kontrol ile karşılaştırılması; **p≤ 0,001, (BK: büyüme kontrol, PK: pozitif kontrol)

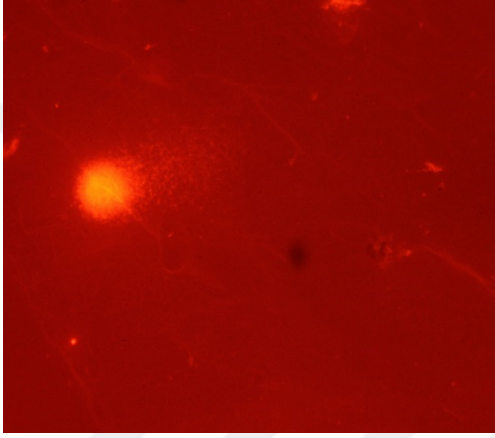
| Dozlar | Hücre Hatları | | | |
|--------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | A549 | Beas-2B | MCF7 | Caco-2 |
| BK | 2,156 ± 1,562 | 4,717 ± 1,718 | 5,677 ± 0,506 | 4,547 ± 1,773 |
| IC _{12,5} | 4,125 ± 1,982** | 4,688 ± 2,104 | 5,491 ± 2,466 | 4,423 ± 1,750 |
| IC ₂₅ | 6,024 ± 3,501** | 7,110 ± 2,730** | 7,199 ± 1,657** | 7,483 ± 5,454** |
| IC ₅₀ | 8,542 ± 5,307** | 9,266 ± 4,392** | 12,088 ± 1,216 | 19,845±18,090** |
| IC ₇₅ | 10,385 ± 6,940** | 15,203±7,406** | 14,573±5,202** | 34,554±26,594** |
| PK | 7,263 ± 7,325 | 13,306 ±13,159 | 33,391 ± 0,466 | 30,181 ±25,310 |



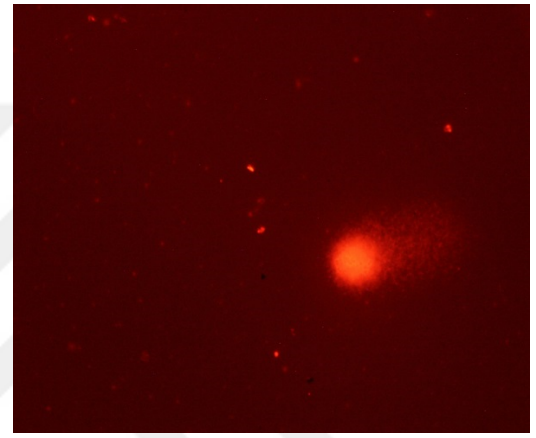
A (Büyüme kontrol)



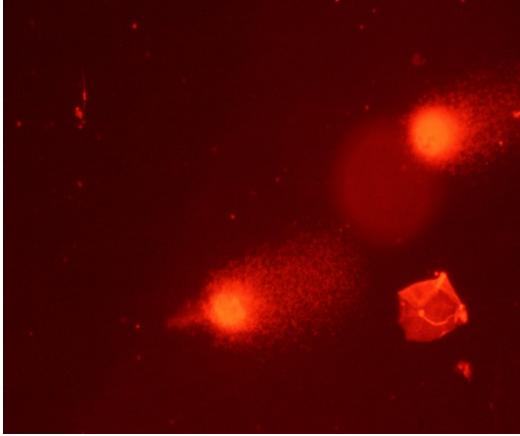
B (IC_{12,5})



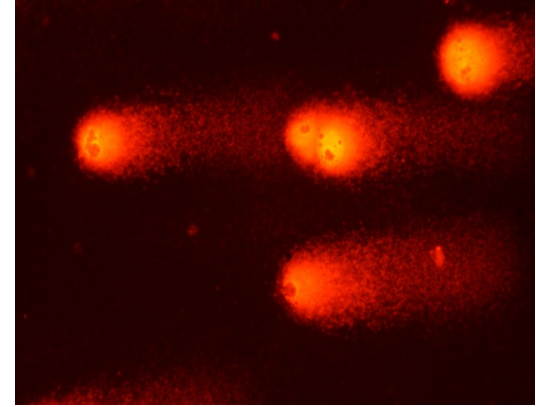
C (IC₂₅)



D (IC₅₀)



E (IC₇₅)



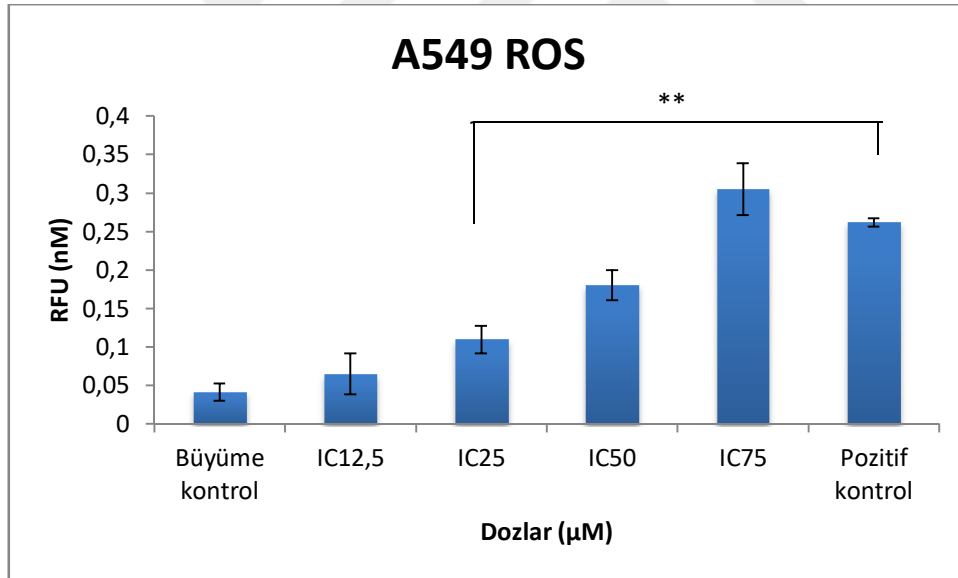
F (Pozitif kontrol)

Şekil 4.14. Komet testi preparatlarından mikroskopik görüntü örnekleri

4.3. ROS Testi Bulguları

4.3.1. A549 Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları

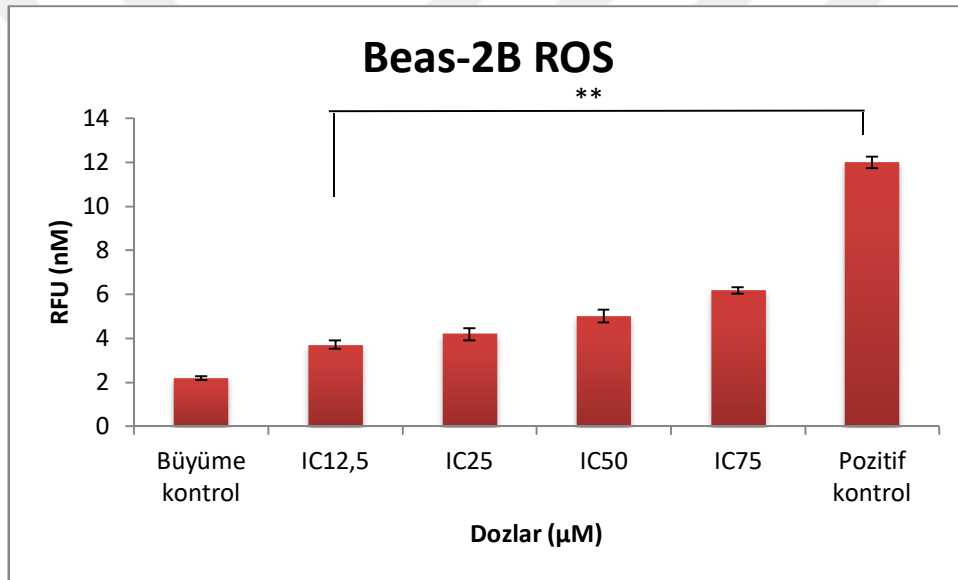
A549 hücre hattına bakır kompleksinin 1 saat muamele edilmesi sonucunda büyüme kontrolde elde edilen ortalama ROS değeri $0,041 \pm 0,015$ şeklindedir. $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} konsantrasyonlarının bu hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucundaki ortalama ROS değerleri sırasıyla $0,065 \pm 0,037$, $0,109 \pm 0,025$, $0,180 \pm 0,027$ ve $0,305 \pm 0,047$ şeklindedir. A549 hücre hattına ait ROS testi bulguları şekil 4.15.'te ve çizelge 4.5.'te gösterilmiştir. A549 hücre hattında bakır kompleksinin IC_{75} ($6,381 \mu M$) , IC_{50} ($4,254 \mu M$) ve IC_{25} ($2,127 \mu M$) doz grupları kontrol grubu ($0,041 \pm 0,015$) ile karşılaştırıldığında doz artışına göre ortalama hücre içi ROS seviyesini istatistiki olarak anlamlı şekilde yükselttiği görülmüştür ($p \leq 0,001$). $IC_{12,5}$ ($1,063 \mu M$) dozu ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama hücre içi ROS seviyesi istatistiki olarak anlamlı artış göstermemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.15. Bakır kompleksinin A549 hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.3.2. Beas-2B Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları

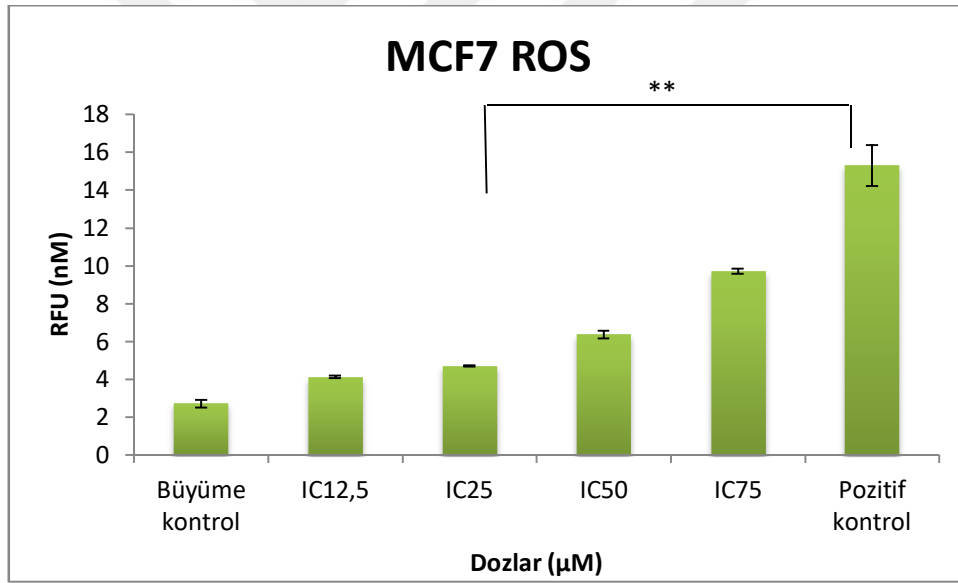
Beas-2B hücre hattına bakır kompleksinin 1 saat muamele edilmesi sonucunda büyüme kontrolde elde edilen ortalama ROS değeri $2,199 \pm 0,127$ şeklindedir. $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının bu hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucundaki ortalama ROS değerleri sırasıyla $3,712 \pm 0,261$, $4,184 \pm 0,397$, $5,015 \pm 0,395$ ve $6,179 \pm 0,223$ şeklindedir. Beas-2B hücre hattına ait ROS testi bulguları şekil 4.16.'da ve çizelge 4.5.'te gösterilmiştir. Beas-2B hücre hattında bakır kompleksinin $IC_{75}(10,735 \mu M)$, $IC_{50}(7,157 \mu M)$, $IC_{25}(3,578 \mu M)$ ve $IC_{12,5}(1,789 \mu M)$ doz grupları kontrol grubu ($0,041 \pm 0,015$) ile karşılaştırıldığında tüm doz gruplarının doz artışına göre ortalama hücre içi ROS seviyesini istatistik olarak anlamlı şekilde yükselttiği görülmüştür ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.16. Bakır kompleksinin Beas-2B hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.3.3. MCF7 Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları

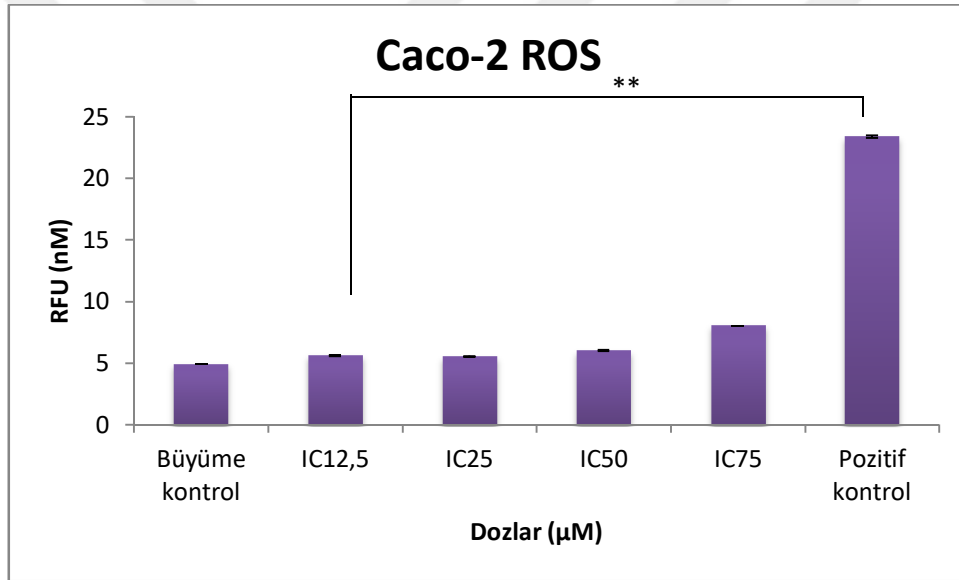
MCF7 hücre hattına bakır kompleksinin 1 saat muamele edilmesi sonucunda büyüme kontrolde elde edilen ortalama ROS değeri $2,723 \pm 0,279$ şeklindedir. IC_{12,5}, IC₂₅, IC₅₀ ve IC₇₅ dozlarının bu hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucundaki ortalama ROS değerleri sırasıyla $4,131 \pm 0,105$, $4,711 \pm 0,062$, $6,358 \pm 0,286$ ve $9,718 \pm 0,205$ şeklindedir. MCF7 hücre hattına ait ROS testi bulguları şekil 4.17.'de ve çizelge 4.5.'te gösterilmiştir. MCF7 hücre hattında bakır kompleksinin IC₇₅ (3,15 μ M), IC₅₀ (2,10 μ M) ve IC₂₅ (1,05 μ M) doz grupları kontrol grubu ($2,723 \pm 0,279$) ile karşılaştırıldığında doz artışına göre ortalama hücre içi ROS seviyesini istatistiki olarak anlamlı şekilde yükselttiği görülmüştür ($p \leq 0,001$). IC_{12,5} (0,525 μ M) dozu ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ortalama hücre içi ROS seviyesi istatistiki olarak anlamlı artış göstermemiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.17. Bakır kompleksinin MCF7 hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

4.3.4. Caco-2 Hücre hattında elde edilen ROS testi bulguları

Caco-2 hücre hattına bakır kompleksinin 1 saat muamele edilmesi sonucunda büyüme kontrolde elde edilen ortalama ROS değeri $4,941 \pm 0,0002$ şeklindedir. $IC_{12,5}$, IC_{25} , IC_{50} ve IC_{75} dozlarının bu hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucundaki ortalama ROS değerleri sırasıyla $5,623 \pm 0,049$, $5,541 \pm 0,021$, $6,023 \pm 0,096$ ve $8,063 \pm 0,014$ şeklindedir. Caco-2 hücre hattına ait ROS testi bulguları şekil 4.18.'de ve çizelge 4.5.'te gösterilmiştir. Caco-2 hücre hattında bakır kompleksinin IC_{75} ($3,075 \mu M$), IC_{50} ($2,05 \mu M$), IC_{25} ($1,025 \mu M$) ve $IC_{12,5}$ ($0,512 \mu M$) doz grupları kontrol grubu ($4,941 \pm 0,0002$) ile karşılaştırıldığında tüm doz gruplarının doz artışına göre ortalama hücre içi ROS seviyesini istatistiki olarak anlamlı şekilde yükselttiği görülmüştür ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.18. Bakır kompleksinin Caco-2 hücre hattına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (RFU, nM) büyüme kontrol ile karşılaştırılması; $**p \leq 0,001$

Çizelge 4.5. Bakır kompleksinin A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarına 1 saat muamele edilmesi sonucu elde edilen ROS değerlerinin (nM), \pm ; standart sapmayı ifade etmektedir, büyüme kontrol ile karşılaştırılması; ** $p \leq 0,001$

| Dozlar | Hücre Hatları | | | |
|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | A549 | Beas-2B | MCF7 | Caco-2 |
| BK | 0,041 \pm 0,015 | 2,199 \pm 0,127 | 2,723 \pm 0,279 | 4,941 \pm 0,0002 |
| IC _{12,5} | 0,065 \pm 0,037 | 3,712 \pm 0,261** | 4,131 \pm 0,105 | 5,623 \pm 0,049** |
| IC ₂₅ | 0,109 \pm 0,025** | 4,184 \pm 0,397** | 4,711 \pm 0,062** | 5,541 \pm 0,021** |
| IC ₅₀ | 0,180 \pm 0,027** | 5,015 \pm 0,395** | 6,358 \pm 0,286** | 6,023 \pm 0,096** |
| IC ₇₅ | 0,305 \pm 0,047** | 6,179 \pm 0,223** | 9,718 \pm 0,205** | 8,063 \pm 0,014** |
| PK | 0,261 \pm 0,007 | 11,999 \pm 0,360 | 15,305 \pm 1,512 | 23,370 \pm 0,144 |

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında yeni sentezlenmiş polimerik yapılı bir bakır karışık ligant kompleksi [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin) (L-asparajin)] ClO₄)_n ile çalışılmıştır. A549 insan akciğer kanseri, Beas-2B insan sağlıklı bronşiyal epitel, MCF7 insan meme kanseri ve Caco-2 insan kolon kanseri hücre hatlarında bu bakır kompleksinin sitotoksik etkileri XTT testi ile, genotoksik etkileri komet testi ile hücre içi ROS düzeyleri ise ROS testi ile belirlenmiştir.

Kompleksler merkez metal katyonu ve ona bağlı olan ligand adı verilen çeşitli anyon ve/veya moleküllerden oluşurlar. Ligandlar en az bir tane bağ yapmamış elektron çifti içerirler ve bu elektronlarla metal katyonuna bağlanırlar. Biyo-inorganik kimya, tıbbi kimya gibi uygulama alanlarında ligand seçimi önem taşır. Yükleri, büyüklükleri, koordinasyon yapan atom kimlikleri ve merkez metale verdikleri elektron sayısına göre sınıflandırılırlar. Bakır metali ile ilaç sentezi için de çeşitli ligandlar kullanılmıştır ve kullanılanların çoğu bakır (II) kompleksleridir. Kanser tedavisinde metal içerikli yaklaşımın öncüsü olan sisplatinin bakıra göre organlara özgü toksisitesinin fazla olması gibi olumsuz özellikleri bulunmaktadır. Meydana gelen toksik etkiler endojen metallerin kullanımına yol açmıştır. Çoğu bakır kompleksi dikkat çekici antikanser aktiviteleri göstermeleri ve platin bileşiklerine oranla daha düşük toksisite oluşturmaları sebebiyle potansiyel antikanser madde olarak önerilmiştir (Saryan ve ark. 1979, Bales ve ark. 2005, Fernandes ve ark. 2006, Ng ve ark. 2008).

Çalışmada kullanılan bakır kompleksinin A549, Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarında sitotoksitesi XTT testi ile incelenmiştir ve pozitif kontrol grubu hidrojen peroksit (H₂O₂) ile kıyaslanmıştır.

Kanserli hücre hatları arasında kullandığımız bakır kompleksine en duyarlı olan hücre hattı Caco-2 hücre hattı ve bunu takiben MCF7 hücre hattıdır. Kompleksin sitotoksik etkisi Beas-2B sağlıklı hücre hattında kanserli hücre hatlarına kıyasla daha az görülmüştür. Jia ve ark. (2016)'nın yaptığı bir çalışmada HeLa, PC3 ve HepG2 hücre hatlarında 3 farklı bakır kompleksinin sitotoksitesi MTT testi ile incelenmiştir. Sonuçlar cisplatine oranla bu bakır komplekslerinin tüm hücre hatlarında meydana getirdiği sitotoksitenin daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Kompleksler arasında en fazla sitotoksik etki gösterenin, DNA'ya daha kuvvetli bağlandığı ve bu sayede hücre proliferasyonunu önemli ölçüde inhibe ettiği görülmüştür. Abdolmaleki ve ark. (2016) yaptığı diğer bir çalışmada MCF7, BTC ve HT29 hücre hatlarında bakır (II) komplekslerinin sitotoksik etkisi oksaliplatin ile kıyaslanmıştır. Tüm hücre hatlarında komplekslerin oksaliplatine göre sitotoksik etkisi daha fazla bulunmuştur.

Kullanılan 4 farklı kompleks içerisinde 2 tane komplekse en fazla duyarlılığı gösteren hücre hattı MCF7 olup, IC_{50} değeri bu kompleksler için $(0,1 \pm 2,4 \mu M)$ ve $(1 \pm 5,1 \mu M)$ şeklinde belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da MCF7 hücre hattının IC_{50} değeri $(2,1 \mu M)$ şeklindedir. Bu değer A549 $(4,254 \mu M)$ ve Beas-2B $(7,157 \mu M)$ hücre hattının IC_{50} değerinden daha düşük olup bu hücre hatlarına oranla, MCF7 kullandığımız komplekse daha fazla duyarlılık gösteren hücre hattıdır. Guo ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada ise A549, HeLa, Eca-109 ve HepG2 hücre hatlarında bakır (II) komplekslerinin sitotoksitesisi 48 saatlik inkübasyon sonrasında MTT testiyle belirlenmiştir. A549 hücre hattının, HeLa, Eca-109 ve HepG2 hücrelerine göre IC_{50} değeri $(19,3 \pm 12 \mu M)$ daha yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da A549 hücre hattının IC_{50} değeri $(4,254 \mu M)$, Caco-2 ve MCF7 hücre hattının IC_{50} değerlerine oranla yüksek bulunmuştur. Rajarajeswari ve ark. (2014) yaptıkları çalışmanın sonucuna göre bakır (II) komplekslerinin sitotoksik etkisinin doza ve zamana bağlı olarak artış gösterdiğini bildirmiştir. Yaptığımız XTT testi sonucunda doz artışına bağlı olarak kullandığımız kompleksin hücre hatlarına gösterdiği sitotoksik etkinin de arttığı rapor edilmiştir.

Hücrelerin canlılığını sonlandıran mekanizmayı çözümleyebilmek için yaygın bir genotoksikite testi olan komet testi yapılmıştır. Komet testi sonuçları kuyruk uzunluğu, kuyruk % DNA ve olive kuyruk momenti ölçümleri olmak üzere üç parametreyle incelenmiştir. Kuyruk uzunluğu sonuçlarına göre, Caco-2 hücre hattında IC_{50} doz grubunda, diğer hücre hatlarına kıyasla en yüksek ortalama kuyruk uzunluğu değeri $(41,191 \pm 34,932)$ görülmüştür. Her hücre hattında düşük dozlardan yüksek dozlara gidildikçe ortalama kuyruk uzunluğu değeri artmıştır. A549 hücre hattında kontrol grubu ve tüm muamele edilen doz grupları arasında ortalama kuyruk uzunluğu değerinde anlamlı fark bulunmuştur.

Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hatlarında ise kontrol grubu ve IC_{12,5} doz grubu arasında ortalama kuyruk uzunluğu değerinde anlamlı fark bulunmamıştır. Kuyruk % DNA parametresi incelendiğinde, Caco-2 hücre hattında IC₅₀ doz grubunda diğer hücre hatlarına kıyasla en yüksek kuyruk %DNA değeri (53,732 ± 19,488) görülmüştür. Beas-2B hariç tüm hücre hatlarında düşük dozlardan yüksek dozlara gidildikçe ortalama kuyruk %DNA değeri artış göstermiştir. Caco-2 ve MCF7 hücre hattında kontrol grubu ve en düşük doz olan IC_{12,5} arasında ortalama kuyruk %DNA değerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Komet testinin incelenen son parametresi olive kuyruk momentine bakıldığında, Caco-2 hücre hattında IC₅₀ dozunda diğer hücre hatlarına kıyasla en yüksek olive kuyruk momenti değeri (19,845 ± 18,090) görülmüştür. Ortalama olive kuyruk momenti değeri düşük dozlardan yüksek dozlara doğru gidildikçe tüm hücre hatlarında artış göstermiştir. Beas-2B, MCF7 ve Caco-2 hücre hattında kontrol grubu ve en düşük doz olan IC_{12,5} doz grubu arasında ortalama olive kuyruk momenti değerinde anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca Caco-2 hücre hattında IC₅₀ dozu ve kontrol grubu arasında ortalama olive kuyruk momenti değerinde anlamlı fark bulunmamıştır.

Bakır kompleksleri ile yapılmış çalışmalarda bu komplekslerin DNA ile iyi bir etkileşim göstermelerine uygun olarak, DNA hasarı oluşturduklarına dair veriler elde edilmiştir (Ganeshpandian ve ark. 2013). Kompleksin Fenton tipi reaksiyonlarla ürettiği hidroksil radikalleri, DNA ile etkileşime girerek zincir kırıkları, baz ve şeker hasarları oluşturmaktadır. Elde edilen komet bulguları hücre hatlarında DNA fragmentasyonu meydana geldiğini göstermiştir. Jia ve ark. (2016) bakır (II) kompleksleriyle yaptıkları çalışmada genotoksik etki komet testi ile belirlenmiş olup en fazla sitotoksik etki gösteren bakır (II) kompleksinin komet testinde kontrol grubuna oranla en fazla kuyruk uzunluğu değerine sahip olduğu ve DNA'da hasar meydana getirdiği saptanmıştır. Kompleks, bizim çalışmamızda kullanılan bakır (II) kompleksi gibi 1,10 phen grubu içermektedir. Bu doğrultuda en düşük IC₅₀ değerine sahip olan Caco-2 ve MCF7 hücre hattında en fazla kuyruk uzunluğunun bulunması çalışmalar arası tutarlılık göstermektedir. Ganeshpandian ve ark. (2012)'nin çalışmasında ise MCF hücre hattı kullanılmış ve komet testi uygulanmıştır. Farklı bakır (II) kompleksleriyle yapılan bu çalışmada en fazla sitotoksik etki gösteren kompleksin oluşturduğu kuyruk uzunluğu değeri en fazladır.

Çalışmamızdaki bakır kompleksinin en sitotoksik olduğu dozlarda DNA tek ve çift iplik kırıkları oluşturması, sitotoksik etkinin DNA ile bağlanma ve hasar oluşturma üzerinden gerçekleşen bir mekanizmayla çalıştığını düşündürmektedir.

Hücre ölümüne yol açan bir başka mekanizma, hücre içi serbet oksijen radikallerinin oranının yükselmesidir. Hücre içinde bakır kompleksi tarafından oluşturulan serbest radikallerin düzeyleri ise DCF-DA maddesi ile yapılan ROS testi ile belirlenmiştir. Bakır komplekslerinin redoks özellikleri, onları DNA'da hasar oluşturabilen ajanların yapımında ve geliştirilmesinde bir araç haline getirmiştir. Yapılan çalışmalar komplekslerin DNA'ya yüksek bir affinite göstererek bağlandığını ortaya koymuştur. Çalışmamızdaki kompleks [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin)(L-asparajin)] ClO₄ ile daha önceden yapılmış bir araştırma, bu bakır (II) kompleksinin DNA'ya bağlanma afinitesinin yüksek olduğunu göstermiştir (İnci ve ark.2016). DNA'ya bağlanabilen bakır kompleksleri Fenton tipi reaksiyonlarla bu molekülde hasar oluşturmaktadır. Çünkü bu reaksiyonlar sonucunda hidroksi gibi güçlü serbest radikaller meydana gelmektedir. Bu ROS'lar da DNA fragmentasyonuna ve zincir kırıklarına sebebiyet vermektedir.

Çalışmamızda hücre hatlarının bakır kompleksiyle muamelesinden 1 saat sonraki ROS düzeyleri incelenmiştir. Sonuçlar, 1 saatlik muamele sonunda hücre hatları arasında IC₅₀ değerinin Caco-2 ve MCF7 hücre hattında birbirine oldukça yakın ve en yüksek olduğunu göstermiştir. Sırasıyla Caco-2 ve MCF7 hücre hattında IC₅₀ dozunda hücre içi ROS değeri (6,023 ± 0,096) ve (6,358 ± 0,286) şeklindedir. Hücre içi ROS düzeyi en düşük değerde (0,180 ± 0,027) olan hücre hattı ise A549 hücre hattıdır. Caco-2 ve MCF7 hücre hatlarına kıyasla Beas-2B hücre hattında daha düşük değerde (5,015 ± 0,395) hücre içi ROS düzeyi görülmüştür. Bu değerlere göre çalışmada kullandığımız bakır kompleksi A549 akciğer karsinom hücre hatlarında beklendiği kadar etkin değildir. Guo ve ark. (2009) bakır (II) kompleksleriyle çalışmasında HeLa, Eca-109, HepG2 ve A549 hücre hatlarına hücre içi ROS seviyelerini ölçebilmek için DCF maddesi kullanılarak ROS testi uygulamıştır. Kompleksler ile 6 saat muamele gören hücre hatlarındaki hücre içi ROS artışının kontrol grubuna oranla doza ve zamana bağlı olarak anlamlı artış gösterdiği bildirilmiştir.

DNA'ya bağlanarak ve DNA'da kırıklara neden olarak hücre siklusunu durduran ve hücreleri apoptoza götüren bakır (II) kompleksleri HeLa, Eca-109, HepG2 ve A549 hücre hatlarında dozun ve zamanın artışına bağlı olarak hücre proliferasyonunu inhibe etmiştir (Guo ve ark. 2009). ROS'lar DNA hasarı, mitokondriyal disfonksiyon, sinyal yollarının aktivasyonu gibi hücresel proseslerde önemli rol oynamaktadırlar. Varna ve ark. (2014) *Escherichia coli* ile yaptığı çalışmada bakır komplekslerinin dozuna bağlı olan ROS yanıtını nitroblue tetrazolium testi ile belirlemiş ve hücre içindeki serbest radikal türlerinin üretimine bağlı olarak oksidatif stres meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda en fazla sayıda ölçümün gerçekleştiği bakır kompleksiyle muamelenin ilk saati sonundaki ROS değerleri doz artışına bağlı olarak artış göstermiştir. Bakır kompleksimize gösterdikleri duyarlılığa göre hücre hatlarında görülen sitotoksikite ve genotoksikite derecesi ile hücre içi ROS düzeyi birbiriyle ilişkilidir. Sonuçlar incelendiğinde, bu bakır kompleksinin kanserli hücre hatlarında daha yüksek sitotoksik etki gösterdiği ve hücrelerin ölümüne DNA fragmentasyonlarının sebep olduğu gözlenmiştir. Bu fragmentasyonların da ROS testi sonuçlarından yola çıkılarak hidroksil radikallerince oluştuğu düşünülmektedir. Sitotoksikite derecesi, meydana gelen DNA kırıkları ve hücre içi ROS düzeyi kanserli hücre hatlarına oranla Beas-2B insan sağlıklı bronşiyal epitel hattında daha düşük değerlerde bulunmuştur. Kullanılan bakır kompleksinin A549 insan akciğer kanser hücre hattı üzerinde, Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı ve MCF7 insan göğüs kanseri hücre hattı üzerindeki kadar etkili olmadığı tespit edilmiştir.

Bu çalışma, tüm canlı organizmalar için gerekli ve endojen bir metal olan bakırın, bir karışık ligant kompleksi ile kanser tedavisinde ne şekilde etkili olacağına dair bir fikir oluşturması amacıyla Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümü Hücre Kültürü ve Genetik Toksikoloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Kullanılan bakır kompleksinin [Cu (5-nitro-1-10-fenantrolin) (L-asparajin)] ClO₄)_n Beas-2B insan sağlıklı bronşiyal epitel hücre hattında gösterdiği sitotoksik ve genotoksik etkinin, A549 insan akciğer kanseri hücre hattı, MCF7 insan göğüs kanseri hücre hattı ve Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattında gösterdiği etkiden daha az olması bu bakır kompleksinin kanserli hücreye karşı seçici olduğunu düşündürmektedir. Özellikle Caco-2 insan kolon kanseri hücre hattı üzerinde daha etkin bir sitotoksik ve genotoksik özellik göstermektedir.

Bu özelliklerinin ışığında bu kompleksin kolon kanserine yönelik bir ilacın tasarlanmasında etken madde olma potansiyelinin olabileceğini düşünmekteyiz. Ancak bu kompleks ile hem başka hücre hatlarında hem de in vivo fare ve diğer deney hayvanları modellerinde ileri çalışmaların yapılması ilaç molekülü olma kapasitesini aydınlatacaktır.



KAYNAKLAR

- Abdolmaleki, S., Ghadermazi, M., Fattahi, A., Sheshmani, S. 2016.** Synthesis, characterization, spectral studies and cytotoxic effects of mixed-ligand mono and binuclear copper(II) complexes and their amide ligands. *Inorganica Chimica Acta*, (443): 284-298.
- Abumrad, N.N., Miller, B. 1983.** The physiologic and nutritional significance of plasma-free amino acid levels. *JPEN*, (7): 163-70.
- Abu-Surrah, A.S., Kettunen, M. 2006.** Platinum group antitumor chemistry: design and development of new anticancer drugs complementary to cisplatin. *Current Medicinal Chemistry*, (13): 1337–1357.
- Adelaide, O.M., James, O.O. 2013.** Antimicrobial, DNA Cleavage and Antitumoral Properties of Some Transition Metal Complexes of 1, 10 –Phenanthroline and 2, 2' – Bipyridine: A Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, (11): 45.
- Agh-Atabay, N.M., Dulger, B., Guçin, F. 2005.** Structural characterization and antimicrobial activity of 1,3-bis(2-benzimidazolyl)-2- thiapropane ligand and its Pd(II) and Zn(II) halide complexes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, (40): 1096-1102.
- Ahuja, I.S., Prasad, I. 1976.** Isonicotinamide complexes with some metal(II) halides and pseudohalides. *Inorganic and Nuclear Chemistry Letters*, (12): 777–784.
- Anjomshoa, M., Fatemi, S.J., Torkzadeh-Mahani, M., Hadadzadeh, H. 2014.** DNA- and BSA-binding studies and anticancer activity against human breast cancer cells (MCF-7) of the zinc(II) complex coordinated by 5,6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine. *Spectrochimica Acta Part A*, (127): 511–520.
- Anjomshoa, M., Hadadzadeh, H., Fatemi, S.J., Torkzadeh-Mahani, M. 2014.** A mononuclear Ni(II) complex with 5,6-diphenyl-3-(2-pyridyl)-1,2,4-triazine: DNA- and BSA-binding and anticancer activity against human breast carcinoma cells. *Spectrochimica Acta Part A*, (136): 205–215.
- Anonim, 2011.** Sisplatin interkalasyonu. <http://www.conconilab.ca/projects->(Erişim tarihi :05.07.2016).
- Arjmand, F., Sharma, G.C., Muddassir, M., Tabassum, S. 2011.** Synthesis and enantiopreferential DNA-binding profile of late 3d transition metal R- and S-enantiomeric complexes derived from N,N-bis-(1-benzyl-2-ethoxyethane): validation of R-enantiomer of copper(II) complex as a human topoisomerase II inhibitor. *Chirality*, (23): 557–567.
- Ayhan, G., Altanlar, N. 2003.** Synthesis and antimicrobial activities of some new benzimidazole derivatives. *Il Farmaco*, (58): 1345–1350.

Baglioni, S., Genuardi, M. 2004. Simple and complex genetics of colorectal cancer susceptibility. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 129(1):35-43.

Bales, B.C., Kodama, T., Weledji, Y.N., Pitie, M., Meunier, B., Greenberg M. 2005. *Nucleic Acids Research*, (33): 5371.

Barve, A., Kumbhar, A., Bhat, M., Joshi, B., Butcher, R., Sonawane, U., Joshi, R. 2009. Mixed-Ligand Copper(II) Maltolate Complexes: Synthesis, Characterization, DNA Binding and Cleavage, and Cytotoxicity. *Inorganic Chemistry*, (48): 9120–9132.

Belzile, J.P., Choudhury, S.A., Cournoyer, D., Chow, T.Y.K. 2006. Targeting DNA repair proteins: a promising avenue for cancer gene therapy. McGill University Health Center, Montreal, QC, Canada.

Berenblum, I. 1974. Frontiers of Biology. In: Carcinogenesis as a Biological Problem. Amsterdam: North-Holland Pub. Co. New York: 212-24

Berger, M.M. 2005. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24(2):172-183.

Bharti, N., Shailendra, M.T., Garza, G., Cruz-Vega, D.E., Castro-Garza, J., Saleem, K., Naqvi, F., Maurya, M.R., Azam, A. 2002. Synthesis, Characterization and Antiamoebic Activity of Benzimidazole Derivatives and Their Vanadium and Molybdenum Complexes. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (12): 869–871.

Block, K.I., Koch, A.C., Mead, M.N., Tothy, P.K., Newman, R.A., Gyllenhaal, C. 2007. Impact of antioxidant supplementation on chemotherapeutic efficacy: A systematic review of the evidence from randomized controlled trials. *Cancer Treatment Reviews*, 33(5): 407-418.

Bos, J.L., Van Kreijl, C.F. 1992.. Genes and Gene Products that Regulate Proliferation and Differentiation: Critical Targets in Carcinogenesis. Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification. *International Agency for Research of Cancer*,(116): 57–65.

Brea-Calvo, G., Rodríguez-Hernández, A., Fernández-Ayala, D.J., Navas, P., Sánchez-Alcázar, J.A. 2006. Chemotherapy induces an increase in coenzyme Q10 levels in cancer cell lines. *Free Radical Biology and Medicine*, 40(8):1293-1302.

Britton, R.S. 1996. Metal-induced hepatotoxicity. *Seminars in Liver Disease*, (16):3–12.

Brujininx, P.C., Sadler, P.J. 2008. New trends for metal complexes with anticancer activity. *Current Opinion in Chemical Biology*, (12): 197–206.

Buchtík, R., Trávníček, Z., Vančo, J. 2012. *In vitro* cytotoxicity, DNA cleavage and SOD-mimic activity of copper(II) mixed-ligand quinolinonato complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (116): 163–171.

Butterworth, B.E., Popp, J.A., Conolly, R.B., Goldsworthy, T.L. 1992. Chemically induced cell proliferation in carcinogenesis. *IARC Scientific Publications*, (116):279–305.

Cardaci, S., Filomeni, G., Rotilio, G., Ciriolo, M.R. 2004. *International Journal of Cancer*, (112): 596–606.

Carmichael, M.J., Clague, M.B., Keir, M.H., Johnston, I.A. 1980. Whole body protein turnover, synthesis and breakdown in patients with colorectal carcinoma. *British Journal of Surgery*, (67): 736.

Chaudhuri, P. 2003. Homo-and Hetero-polymetallic Exchange Coupled Metal-Oximates. *Coordination Chemistry Reviews*, (243): 143-190.

Chen, X., Gao, F., Zhou, Z.X., Yang, W.Y., Guo, L.T., Ji, L.N. 2010. Effect of ancillary ligands on the topoisomerases II and transcription inhibition activity of polypyridyl ruthenium(II) complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (104): 576–582.

Chen, Y., Jungsuwadee, P., Vore, M., Butterfield, D.A., St Clair, D.K. 2007. Collateral damage in cancer chemotherapy: oxidative stress in nontargeted tissues. *Molecular Intervention*, 7(3): 147-156.

Chibber, S., Farhan, M., Hassan, I., Naseem, I. 2011. White light-mediated Cu(II)-5FU interaction, augments chemotherapeutic potential of 5FU: an in vitro study. *Tumor Biology*, (32): 881-92.

Chibber, S., Farhan, M., Hassan, I., Naseem, I. 2012. Light-mediated intraction of methotrexate with transition metal Cu (II). *Medicinal Chemistry Research*, (21): 2379-87.

Chikira, M., Tomizawa, Y., Fukita, D., Sugizaki, T., Sugawara, N., Yamazaki, T., Sasano, A., Shindo, H., Palaniandavar, M., Antholine, W.E. 2002. DNA-fiber EPR study of the orientation of Cu(II) complexes of 1,10-phenanthroline and its derivatives bound to DNA: mono(phenanthroline)-copper(II) and its ternary complexes with amino acids. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (89): 163–173.

Chohan, Z.H., Arif, M., Sarfraz, M. 2007. Metal-based Antibacterial and Antifungal Amino Acid Derived Schiff Bases: Their Synthesis, Characterization and in vitro Biological Activity. *Applied Organometallic Chemistry*, (21): 294–302.

Chow, E., Thirlwell, C., Macrae, F., Lipton, L. 2004. Colorectal cancer and inherited mutations in base-excision repair. *The Lancet Oncology*, 5(10):600-6.

Chu, G. 2000. Biochemistry 201: DNA repair. <http://cmgm.stanford.edu/biochem201/Handouts/dnarepair.pdf>. 05.07.2016. Mutation, Mutagens and DNA Repair Outline. <http://www.personal.ksu.edu/~bethmont/mutdes.html>-(Erişim tarihi: 05.07.2016).

Chung, D.C., Rustgi, A.K. 1995. DNA mismatch repair and cancer. *Gastroenterology*, (109): 1685-1699.

Clemens, M.R., Waladkhani, A.R., Bublitz, K., Ehninger, G., Gey, K.F. 1997. Supplementation with antioxidants prior to bone marrow transplantation. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 109(19): 771-776.

Corn, P.G., El-Deiry, W.S. 2002. Derangement of growth and differentiation control in onkogenesis. *Bioessays*, (1): 83-90.

Crohns, M., Liippo, K., Erhola, M., Kankaanranta, H., Moilanen, E., Alho, H., Kellokumpu-Lehtinen, P. 2009. Concurrent decline of several antioxidants and markers of oxidative stress during combination chemotherapy for small cell lung cancer. *Clinical Biochemistry*, 42(12): 1236-1245.

Da Silveira, V.C., Luz, J.S., Oliveira, C.C., Graziani, I., Ciriolo, M.R., Da Costa Ferreira, A.M. 2008. Double-strand DNA cleavage induced by oxindole-Schiff base copper(II) complexes with potential antitumor activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (102): 1090–1103.

Das, P., Jain, C.K., Dey, S.K., Saha, R., Chowdhury, A.D., Roychoudhury, S., Kumar, S., Majumder, H.K., Das, S. 2014. Synthesis, crystal structure, DNA interaction and in vitro anticancer activity of a Cu(II) complex of purpurin: dual poison for human DNA topoisomerase I and II. *RSC (Royal Society of Chemistry) Advances*, 4 59344–59357.

Deshpande, S.S., Irani, K. 2002. Oxidant signalling in carcinogenesis: a commentary. *Human & Experimental Toxicology*, (2): 63-4.

Devereux, T.R., Risinger, J.I., Barrett, J.C. 1999. Mutations and altered expression of the human cancer genes: What they tell us about causes. *IARC Scientific Publications*, (146): 19-42.

Dianzani, I., Gibello, L., Biava, A., Giordano, M., Bertolotti, M., Betti, M., Ferrante, D., Guarrera, S., Betta, G.P., Mirabelli, D., Matullo, G., Magnani, C. 2006. Polymorphisms in DNA repair genes as risk factors for asbestos-related malignant mesothelioma in a general population study. *Mutation Research*, 599(1-2):124-34

Diez, M., Arroyo, M., Cerdan, F.J., Munoz, M., Martin, M.A., Balibrea, J.L. 1989. Serum and tissue trace metal levels in lung Cancer. *Oncology*, (46) 230-234.

Digweed, M. 2003. Response to environmental carcinogens in DNA-repair-deficient disorders. *Toxicology*, 193(1-2):111-24.

Diplock, A. 1998. Healthy lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, Belgium, 59.

Dixon, K., Koprass, E. 2004. Genetic alterations and DNA repair in human carcinogenesis. *Seminars in Cancer Biology*, (14): 441-48.

Duthie, G.G., Wahle, K.W.J., James, W.P.T. 1989. Oxidants, antioxidants and cardiovascular disease. *Nutrition Research Reviews*, (2): 51-62.

Dürken, M., Agbenu, J., Finckh, B., Hübner, C., Pichlmeier, U., Zeller, W., Winkler, K., Zander, A., Kohlschütter, A. 1995. Deteriorating free radical-trapping capacity and antioxidant status in plasma during bone marrow transplantation, *Bone Marrow Transplantation*, 15: 757-762.

Ebadi, M., Swanson, S. 1988. The status of zinc, copper, and metallothionein in cancer patients. *Progress in Clinical and Biological Research*, (259): 161-75.

Eden, E., Ekman L., Bennegard, K., Lindmark, L., Lundholm, K. 1984. Wholebody tyrosine flux in relation to energy expenditure in weight-losing cancer patients. *Metabolism*, (33): 1020.

Elenbaas, L., Spirio, F., Koerner, M.D., Fleming, D.B., Zimonjic, J.L., Donaher, N.C., Popescu, W.C. 2001. Human breast cancer cells generated by onkogenic transformation of primary mammary epithelial cells. *Genes & Development*, (15): 50–65.

Elliot, J.G. 1999. Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Technology*, 53(2); 46-48.

Erdamar, H., Hacievliyagil Kazancı, F., Gök, S. 2015. Biochemical Changes in Cancer. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, (3234).

Facorro, G., Sarrasague, M.M., Torti, H., Hager, A., Avalos, J.S., Foncuberta, M., Kusminsky, G. 2004. Oxidative study of patients with total body irradiation: effects of amifostine treatment. *Bone Marrow Transplantation*, 33(8): 793-798.

Fan, R., Kumaravel, T.S., Jalali, F., Marrano, P., Squire, J.A., Bristow, R.G. 2004. Defective DNA strand break repair after DNA damage in prostate cancer cells: implications for genetic instability and prostate cancer progression. *Cancer Research*, 64(23): 8526-33.

Fernandes C., Parrilha, G.L., Lessa, J.A, Santiago, L.J.M., Kanashiro, M.M., Boniolo, F.S., Bortoluzzi, A.J., Vugman, N.V., Herbst, M.H., Horn, A. 2006. *Inorganica Chimica Acta*, (359): 3167.

Filomeni, G., Cerchiaro, G., Ferreira, A.M.D.C., De Martino, A., Pedersen, J.Z., Rotilio, G., Ciriolo, M.R. 2007. Pro-apoptotic Activity of Novel Isatin-Schiff Base Copper(II) Complexes Depends on Oxidative Stress Induction and Organelle-selective Damage. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, (282): 12010–12021.

Finefield, J.M., Sherman, D.H., Kreitmanm, M., Williams, R.M. 2012. Enantiomeric natural products: occurrence and biogenesis. *Angewandte Chemie International Edition*, (51): 4802-4836.

Foulds, L. 1969. Neoplastic Development 1. New York: Academic Pres, 122-34

Galal, S.A., Hegab, K.H., Hashem, A.M., Youssef, N.S. 2010. Synthesis and antitumor activity of novel benzimidazole-5-carboxylic acid derivatives and their transition metal complexes as topoisomerase II inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, (45): 5685–5691.

Gama, S., Mendes, F., Marques, F., Santos, I.C., Carvalho, M.F., Correia, I., Pessoa, J.C., Santos, I., Paulo, A. 2011. Copper(II) complexes with tridentate pyrazole-based ligands: synthesis, characterization, DNA cleavage activity and cytotoxicity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (105): 637-644.

- García-Giménez, J.L., González-Álvarez, M., Liu-González, M., Macías, B., Borrás, J., Alzueta, G. 2009.** Toward the development of metal-based synthetic nucleases: DNA binding and oxidative DNA cleavage of a mixed copper(II) complex with *N*-(9*H*-purin-6-yl)benzenesulfonamide and 1,10-phenantroline. Antitumor activity in human Caco-2 cells and Jurkat T lymphocytes. Evaluation of *p53* and *Bcl-2* proteins in the apoptotic mechanism. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (103): 923–934.
- Geraki, K., Farquharson, M.J., Bradley, D.A. 2002.** Concentrations of Fe, Cu and Zn in breast tissue: a synchrotron XRF study. *Physics in Medicine and Biology*, (47): 2327–2339.
- Gökçe, C., Gup, R. 2013.** Copper(II) complexes of acylhydrazones: synthesis, characterization and DNA interaction. *Applied Organometallic Chemistry*, (27): 263–268.
- Gold, J. 1974.** Cancer cachexia and gluconeogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, (230): 103-10.
- Guo, W., Ye, S., Cao, N., Huang, J., Gao, J., Chen, Q. 2010.** ROS-mediated autophagy was involved in cancer cell death induced by novel copper(II) complex. *Experimental and Toxicologic Pathology*, (62): 577-582.
- Gutteridge, J.M.C. 1994.** Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, (91): 133-140.
- Hadi, S.M., Asad, S.F., Singh, S., Ahmad, A. 2000.** Putative mechanism for anticancer and apoptosis-inducing properties of plant-derived polyphenolic compounds. *IUBMB Life*, (50): 167-71.
- Hadi, S.M., Bhat, S.H., Azmi, A.S., Hanif, S., Shamim, U., Ullah, M.F. 2007.** Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols: a putative mechanism for anticancer properties. *Seminars in Cancer Biology*, (17): 370-6.
- Halliwell, B., Aruoma, O.I. 1991.** DNA damage by oxygen-derived species; Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters*, (281): 9-19.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1989.** Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, United Kingdom, pp 823.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1990.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Methods in Enzymology*, (186): 1-85.
- Halliwell, B., Whiteman, M. 2004.** Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, 142(2): 231-255.
- Hammud, H.H., Nemer, G., Sawma, W., Touma, J., Barnabe, P., Bou-Mouglabey, Y., Ghannoum, A., El-Hajjar, J., Usta, J. 2008.** Copper-adenine complex, a compound, with multi-biochemical targets and potential anti-cancer effect. *Chemico-Biological Interactions*, (173): 84–96.

- Hanif, M., Babak, M.V., Hartinger, C.G. 2014.** Development of anticancer agents: wizardry with osmium. *Drug Discovery Today*, (19): 1640–1648.
- Harris, Z.H., Gitlin, J.D. 1996.** Genetic and molecular basis of copper toxicity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, (63): 836S–41S.
- He, Y., Wu, B., Yang, J., Robinson, D., Risen, L., Ranken, R., Blyn, L., Sheng, S., Swayze, E.E. 2003.** 2-Piperidin-4-yl-benzimidazoles with broad spectrum antibacterial activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (13): 3253–3256.
- Hegg, E.L., Burstyn, J.N. 1998.** Toward the development of metal-based synthetic nucleases and proteases: a rationale and progress report in applying the principles of coordination chemistry. *Coordination Chemistry Reviews*, (173): 133–165.
- Helal, M.H., Abbas, S.Y., Salem, M.A., Farag, A.A., Ammar, Y.A. 2013.** Synthesis and characterization of new types of 2-(6-methoxy-2-naphthyl)propionamide derivatives as potential antibacterial and antifungal agents. *Medicinal Chemistry Research*, (22): 5598-5609.
- Henrici-Olive, G., Olive, S. 1984.** The Chemistry of the Catalyzed Hydrogenation of Carbon Monoxide. Springer, Berlin, pp. 152.
- Hernández-Gil, J., Ferrer, S., Castiñeiras, A., Lloret, F. 2012.** A Unique Discrete Tetranuclear Cu'–Cu(N-N)₂Cu–Cu' Copper(II) Complex, Built from a μ_3 -1,2,4-Triazolato- μ -carboxylato Ligand, as an Effective DNA Cleavage Agent. *Inorganic Chemistry Communications*, (51): 9809–9819.
- Heynick, L.N., Johnston, S.A., Mason, P.A. 2003.** Radio Frequency Electromagnetic Fields: Cancer, Mutagenesis, and Genotoxicity. *Bioelectromagnetics*, (S6): 74-100.
- Horton, D.A., Bourne, G.T., Smythe, M.L. 2003.** The combinatorial synthesis of bicyclic privileged structures or privileged substructures. *Chemical Reviews*, (103): 893–930.
- Hunnisett, A., Davies, S., McLaren-Howard, J., Gravett, P., Finn, M., Gueret-Wardle, D. 1995.** Lipoperoxides as an index of free radical activity in bone marrow transplant recipients. Preliminary observations. *Biological Trace Elements Research*, 47(1-3): 125- 132.
- Hussein, S.P., Harris, C.C. 1998.** Molecular epidemiology of human cancer. *Recent Results in Cancer Research*, (154): 22–36.
- Iglesias, S., Alvarez, N., Torre, M.H.E., Kremer, J., Ellena, R.R., Ribeiro, R.P., Barroso, A.J., Costa-Filho, M.G., Kramer, G., Facchin, J. 2014.** *Journal of Inorganic Biochemistry*, (139): 117–123.
- İnci, D., Aydın, R., Sevgi, T., Zorlu, Y., Demirkan, E. 2016.** Synthesis, crystal structure, stability studies, DNA/albumins interactions and antimicrobial activities of two novel Cu(II) complexes with amino acids and 5-nitro-1,10-phenanthroline. (Basımda).

Jaividhya, P., Dhivya, R., Akbarsha, M.A., Palaniandavar, M. 2012. Efficient DNA cleavage mediated by mononuclear mixed ligand copper(II) phenolate complexes: The role of co-ligand planarity on DNA binding and cleavage and anticancer activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (114): 94–105.

Jajte, J., Zmyslony, M., Palus, J., Dziubaltowska, E., Rajkowska, E. 2001. Protective effect of melatonin against in vitro iron ions and 7 mT 50 Hz magnetic field-induced DNA damage in rat lymphocytes. *Mutation Research*, 483(1-2): 57-64.

Jamieson, E.R., Lippard, S.J. 1999. Structure, recognition, and processing of Cisplatin–DNA adducts. *Chemical Reviews (ACS Publications)*, (99): 2467–98.

Jarvinen, T.A., Liu, E.T. 2006. Simultaneous amplification of HER-2 (ERBB2) and topoisomerase IIa (TOP2A) genes—molecular basis for combination chemotherapy in cancer. *Current Cancer Drug Targets*, (6): 579–602.

Jeevanandam M., Horowitz G.D., Lowry S.F., Brennan M.F. 1984. Cancer cachexia and protein metabolism. *Lancet*, (1): 1423.

Jia L., Xu J., Zhao X., Shen S., Zhou T., Xu Z., Zhu T., Chen R., Ma T., Xie J., Dong K., Huang J. 2016. Synthesis, characterization, and antitumor activity of three ternary dinuclear copper (II) complexes with a reduced Schiff base ligand and diimine coligands in vitro and in vivo. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (159): 107-119.

Jia, L., Cai, H.-x., Xu, J., Zhou, H., Wu, W.-n., Li, F.-f., Wang, Y., Pei, X.-w., Wang, Q. 2013. Cytotoxic, cell apoptosis and DNA binding properties of some ternary Cu(II) complexes with a reduced Schiff base ligand and heterocyclic bases. *Inorganic Chemistry Communications*, (35): 16–18.

Jia, L., Xu, X.-M., Xu, J., Chen, L.-H., Jiang, P., Cheng, F.-X., Lu, G.-N., Wang, Q., Wu, J.-C., Tang, N. 2010. Synthesis, Characterization, Cytotoxic Activities, and DNA-Binding Studies of Ternary Copper(II) Complexes with New Coumarin Derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, (58): 1003–1008.

Jungwirth, U., Kowol, C.R., Keppler, B.K., Hartinger, C.G., Berger, W., Heffeter, P. 2011. Anticancer activity of metal complexes: involvement of redox processes. *Antioxidants & Redox Signaling*, (15): 1085–1127.

Kabanos, T.A., Keramidas, A.D., Mentzafos, D., Russo, U., Terzis, A., Tsangaris, J.M. 1992. Synthesis structural and physical studies of tin(IV) complexes with 2-(2-pyridyl)benzimidazole. *Journal Of The Chemical Society, Dalton Transactions*, (18): 2729–2733.

Kagawa, T.F., Geierstanger, B.H., Wang, A.H., Ho, P.S. 1991. Covalent modification of guanine bases in double-stranded DNA. The 1.2-Å Z-DNA structure of d(CGCGCG) in the presence of CuCl₂. *The Journal of Biological Chemistry*, (266): 20175-84.

Kannan, D., Arumugham, M.N. 2013. Synthesis, Characterisation, DNA-Binding Studies and antimicrobial activity of Copper(II) Complex with 1,10 Phenanthroline, L-Tyrosine and Semicarbazide as Ligands. *International Journal of Inorganic and Bioinorganic Chemistry*, (3): 8–15.

Katsarou, M.E., Efthimiadou, E.K., Psomas, G., Karaliota, A., Vourloumis, D. 2008. Novel copper(II) complex of N-propyl-norfloxacin and 1,10-phenanthroline with enhanced antileukemic and DNA nuclease activities. *Journal of Medicinal Chemistry*, (51): 470–478.

Kaur, C., Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *International Journal of Food Science & Technology*, (36): 703-725.

Klajner, M., Licon, C., Fetzer, L., Hebraud, P., Mellitzer, G., Pfeffer, M., Harlepp, S., Gaiddon, C. 2014. Subcellular localization and transport kinetics of ruthenium organometallic anticancer compounds in living cells: a dose-dependent role for amino acid and iron transporters. *Inorganic Chemistry*, (53): 5150-5158.

Kostova, I., Balkansky, S. 2013. Metal Complexes of Biologically Active Ligands as Potential Antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*, (20): 4508–4539.

Kovala-Demertzi, D. 2000. Transition metal complexes of diclofenac with potentially interesting anti-inflammatory activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (79): 153–157.

Kowol, C.R., Heffeter, P., Miklos, W., Gille, R., Trondl, L., Cappellacci, W., Berger, B.K., Keppler, J. 2012. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, (17): 409–423.

Kucková, L., Jomová, K., Švorcová, A., Valko, M., Segřa, P., Moncol', J., Koříšek, J. 2015. Synthesis, Crystal Structure, Spectroscopic Properties and Potential Biological Activities of Salicylate–Neocuproine Ternary Copper(II) Complexes. *Molecules*, (20): 2115–2137.

Kumar, R.S., Sasikala, K., Arunachalam, S. 2008. DNA interaction of some polymer–copper(II) complexes containing 2,2'-bipyridyl ligand and their antimicrobial activities. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (102): 234–241.

Kuo, M.T., Chen, H.H., Song, I.S., Savaraj, N., Ishikawa, T. 2007. The roles of copper transporters in cisplatin resistance. *Cancer Metastasis Reviews*, 26(1): 71-83.

Küçükbay, H., Durmaz, R., Orhan, E., Günal, S. 2003. Synthesis, antibacterial and antifungal activities of electron-rich olefins derived benzimidazole compounds. *Il Farmaco*, (58): 431–437.

Lavelli, V., Peri, C., Rizzola, A. 2000. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using Xanthine oxidase, Myeloperoxidase, and copper-induced lipid peroxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5): 1442-1448.

- Lehman I.R. 1997.** Eukaryotic DNA Repair Minireview Series. *The Journal of Biological Chemistry*, (272): 23463.
- Li, L.C., Okino, S.T., Dahiya, R. 2004.** DNA methylation in prostate cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1704(2):87-102.
- Li, X., Bi, C.-f., Fan, Y.-h., Zhang, X., Meng, X.-m., Cui, L.-s. 2014.** *Inorganic Chemistry Communications*, (50): 35–41.
- Lin, J.Q. 2002.** Effect of nutrition intervention on antioxidant capacity and lipid peroxide in patients with bone marrow transplantation. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 22(6): 530-532.
- Lindsay, R.C. 1996.** Food Additives: In “Food Chemistry”, Ed: Fennema, O.R. Marcel Dekker, New York, pp: 767-823.
- Lippard, S.J. 1995.** Progress in Inorganic Chemistry, Bioinorganic Chemistry. Wiley, Sydney, pp 535.
- Lowndes, S.A., Harris, A.L. 2005.** The role of copper in tumour angiogenesis. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, (10): 299-310.
- Lundholm K., Edstrom S., Ekman, L. 1978.** A comparative study of the influence of malignant tumor on host metabolism in mice and man. *Cancer Research*, (42): 453-63.
- Macreadie, I.G. 2008.** Copper transport and Alzheimer’s disease. *European Biophysics Journal*, (37): 295–300.
- Maheswari, P.U., Barends, S., Özalp-Yaman, S., Hoog, P., Casellas, H., Teat, S.J., Massera, C., Lutz, M., Spek, A.L., Van Wezel, G.P., Gamez, P., Reedijk, J. 2007.** Unique ligand-based oxidative DNA cleavage by zinc(II) complexes of hpyramol and hpyrimol. *European Journal of Inorganic Chemistry*, (13): 5213–5222.
- Maheswari, P.U., Roy, S., Den Dulk, H., Barends, S., Van Wezel, G., Kozlevcar, B., Gamez, P., Reedijk, J. 2006.** The square-planar cytotoxic [Cu-II(pyrimol)Cl] complex acts as an efficient DNA cleaver without reductant. *Journal of the American Chemical Society*, (128): 710–711.
- Margerum, J.D., Miller, L.J. 1971.** Photochromism. Wiley-Interscience, New York, pp 569.
- Marzano, C., Gandin, V., Pellei, M., Colavito, D., Papini, G., Lobbia, G.G., Del Giudice, E., Porchia, M., Tisato, F., Santini, C. 2008.** In vitro antitumor activity of the water soluble copper(I) complexes bearing the tris(hydroxymethyl)phosphine ligand. *Journal of Medicinal Chemistry(ACS Publications)*, (51): 798–808.
- Marzanol, C., Pellei, M., Tisato, F., Santini, C. 2009.** Copper complexes as anticancer agents. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, (9): 185–211.
- Meydani, M. 2001.** Antioxidants and cognitive function. *ILSI Nutrition Reviews*, 59(8): S75-S82.

Mildvan, A.S., Cohn, M. 1966. Kinetic and magnetic resonance studies of the pyruvate kinase reaction. II. Complexes of enzyme, metal, and substrates. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, (241): 1178–1193.

Miller, D.D. 1996. Minerals: In “Food Chemistry”, Ed: Fennema, O.R. Marcel Dekker, New York, pp: 617-649.

Mothilal, K.K., Karunakaran, C., Rajendran, A. 2004. Synthesis, Xray crystal structure, antimicrobial activity and photodynamic effects of some thiabendazole complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (98): 322-332.

Muhammad, N., Guo, Z. 2014. Metal-based anticancer chemotherapeutic agents. *Current Opinion in Chemical Biology*, (19): 144–153.

Nasulewicz, A., Mazur, A., Opolski, A. 2004. Role of copper in tumour angiogenesis—clinical implications. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, (18): 1-8.

Navarrete-Vazquez, G., Cedillo, R., Hernandez-Campos, A., Yopez, J., Hernandez-Luis, F., Valdez, J., Morales, R., Cortes, R., Hernandez, M., Castillo, R. 2001. Synthesis and antiparasitic activity of 2-(Trifluoromethyl)benzimidazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, (11): 187–190.

Nawar, W.W. 1996. Lipids: In “Food Chemistry”, Ed: Fennema, O.R. Marcel Dekker, New York, pp: 225-319.

Nayak, S.B., Bhat, V.R., Upadhyay, D., Udupa, S.L. 2003. Copper and ceruloplasmin status in serum of prostate and colon cancer patients. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*, (47): 108-110.

Neri, M., Taioli, E., Filiberti, R., Paolo Ivaldi, G., Aldo Canessa, P., Verna, A., Marroni, P., Puntoni, R., Hirvonen, A., Garte, S. 2006. Metabolic genotypes as modulators of asbestos-related pleural malignant mesothelioma risk: A comparison of Finnish and Italian populations. *International Journal of Hygiene Environmental Health*, 209(4): 393-8.

Ng, C.H., Kong, K.C., Von, S.T., Balraj, P., Jensen, P., Thirthagiri, E., Hamada, H., Chikira, M. 2008. Coordination modes of multidentate ligands in fac-[Re(CO)(3)(polyaminocarboxylate)] analogues of (99m)Tc radiopharmaceuticals. dependence on aqueous solution reaction conditions. *Dalton Transactions*, 49(7): 447–454.

Norton, JA., Shamberger, R., Stein, T.P., Milne, G.W.A., Brennan, M.F. 1981. The influence of tumor-bearing on protein metabolism in the rat. *Journal of Surgical Research*, (30): 456-62.

Nowell, P. 1976. The clonal evolution of tumör cell populations. *Science*, (194): 23–28.

- Ou, B., Huang, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J.A., Deemer, E.K. 2002.** Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11): 3122-3128.
- Özden, S., Atabey, D., Yıldız, S., Göker, H. 2005.** Synthesis and Potent Antimicrobial activity of Some Novel Methyl or Ethyl 1H-Benzimidazole-5-carboxylates derivatives carrying amide or midine groups. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, (13): 1587–1597.
- Pachon, L.D., Golobic, A., Kozlevcar, B., Gamez, P., Kooijman, H., Spek, A.L. Reedijk, J. 2004.** Intramolecular oxidation of the ligand 4-methyl-2-N-(2-pyridylmethyl)aminophenol (Hpyramol) upon coordination with iron(II) chloride and manganese(II) perchlorate. *Inorganica Chimica Acta*, (357): 3697-3702.
- Pasetto, L.M., D' Andrea, M.R., Brandes, A.A. 2006.** The development of platinum compounds and their possible combination. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, (60): 59-75.
- Pawar, N.S., Dalal, D.S., Shimpi, S.R., Mahulikar, P.P. 2004.** Studies of antimicrobial activity of *N*-alkyl and *N*-acyl 2-(4-thiazolyl)-1*H*-benzimidazoles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, (21): 115–118.
- Pectasides, D., Kamposioras, K., Papaxoinis, G. 2008.** Chemotherapy for recurrent cervical cancer. *Cancer Treatment Reviews*, (34): 603-613.
- Pommier, Y. 2013.** Drugging topoisomerases: lessons and challenges. *ACS Publications Chemical Biology*, (8): 82–95.
- Prasad, K.N., Cole, W.C., Kumar, B., Che Prasad, K. 2002.** Pros and cons of antioxidant use during radiation therapy. *Cancer Treatment Reviews*, 28(2): 79-91.
- Proenza, A.M., Oliver, J., Palou, A., Roca, P. 2003.** Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content. *The Journal of Nutritional Biochemistry*,(14):133-8.
- Prohaska, J.R. 2008.** Role of copper transporters in copper homeostasis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, (88): 826S–9S.
- Puckett, C.A., Barton, J.K. 2007.** Methods to explore cellular uptake of ruthenium complexes. *Journal of American Chemical Society*, (129): 46-47.
- Rajarajeswari, C., Ganeshpandian, M., Palaniandavar, M., Riyasdeen, A., Akbarsha, M.A. 2014.** Mixed ligand copper(II) complexes of 1,10-phenanthroline with tridentate phenolate/pyridyl/(benz)imidazolyl Schiff base ligands: Covalent vs non-covalent DNA binding, DNA cleavage and cytotoxicity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (140): 255-268.
- Rosenberg, B., Camp, L.V., Trosko, J.E., Mansour, V.H. 1969.** Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature*, (222): 385.

Rosenberg, B., VanCamp, L., Trosko, J.E. 1969. Platinum compounds: A new class of potent antitumour agents. *Nature*,(222): 385-386.

Ruiz, J. 2006. “Palladium(II) and Platinum(II) Organometallic Complexes with the Model Nucleobase Anions of Thymine, Uracil, and Cytosine: Antitumor Activity and Interactions with DNA of the Platinum Compounds. *Inorganic Chemistry*, 45 (16): 6347–6360

Ruiz-Azuara, L., Bravo-Gomez, M.E. 2010. Copper compounds in cancer chemotherapy. *Current Medicinal Chemistry*, (17): 3606–3615.

Sahu, S.C. 1990. Onkogenes, onkogenesis and oxygen radicals. *Biomed Environ Sci*: 183-201.

Sangeetha, P., Das, U.N., Koratkar, R., Suryaprabha, P. 1990. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1): 15-19.

Sarı, I., Çetin, A., Kaynar, L., Saraymen, R., Hacıoğlu, S.K., Öztürk, A., Koçyiğit, I., Altuntaş, F., Eser, B. 2008. Disturbance of pro-oxidative/antioxidative balance in allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Annals of Clinical and Laboratory Science*, 38(2): 120-125.

Saryan, L.A., Ankel, E., Krishnamurti, C., Petering, D.H., Elford, H. 1979. *Journal of Medicinal Chemistry*, (10): 1218.

Selvi, P.T., Palaniandavar, M. 2002. Spectral, viscometric and electrochemical studies on mixed ligand cobalt(III) complexes of certain diimine ligands bound to calf thymus DNA. *Inorganica Chimica Acta*, (337): 420–428.

Sherr, J. 1996. Cancer cell cycle. *Science*, (274): 1672–7.

Sieber, O., Heinimann, K., Tomlinson, I. 2005. Genomic stability and tumorigenesis. *Seminars in Cancer Biology*, 15(1): 61-6.

Sigman, D.S., Graham, D.R., Aurora, V.D., Stern, A.M. 1979. Oxygen-dependent cleavage of DNA by the 1,10-phenanthroline . cuprous complex. Inhibition of Escherichia coli DNA polymerase I. *The Journal of Biological Chemistry*, (254): 12269–12272.

Silva, P.P., Guerra, W., dos Santos, G.C., Fernandes, N.G., Silveira, J.N. da Costa Ferreira, A.M., Bortolotto, T., Terenzi, H., Bortoluzzi, A.J., Neves, A. 2014. Correlation between DNA interactions and cytotoxic activity of four new ternary compounds of copper(II) with N-donor heterocyclic ligands. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (132): 67–76.

Simone, C.B., Simone, N.L., Simone, V., Simone, C.B. 2007. Antioxidants and other nutrients do not interfere with chemotherapy or radiation therapy and can increase kill and increase survival, part 1. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 13(1): 22-28.

Singh, K., Singh, D.P., Barwa, M.S., Tyagi, P., Mirza, Y. 2006. Antibacterial Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) Complexes of Schiff bases Derived from Fluorobenzaldehyde and Triazoles. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, (21)562.

Spasov, A.A., Yozhitsa, I.N., Bugavea, L.I., Anisimova, V.A. 1999. Benzimidazole derivatives: Spectrum of pharmacological activity and toxicological properties. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, (33): 232–243.

Spassky, A., Sigman, D.S. 1985. Nuclease Activity of 1,10-Phenanthroline-Copper Ion. Conformational Analysis and Footprinting of the lac Operon. *Biochemistry*, (24): 8050–8056.

Stojic, L., Brun, R., Jiricny, J. 2004. Mismatch repair and DNA damage signaling. *DNA Repair*, 3(8-9): 1091-101.

Tardito, S., Bassanetti, I., Bussolati, O. 2011. Copper binding agents acting as copper ionophores Lead to caspase inhibition and paraptotic cell death in human Cancer cells. *Journal of American Chemical Society*, (133): 6235-6242.

Tardito, S., Bussolati, O., Maffini, M., Tegoni, M., Giannetto, M., Dall'Asta, V. 2007. Thioamido coordination in a thioxo-1,2,4-triazole copper(II) complex enhances nonapoptotic programmed cell death associated with copper accumulation and oxidative stress in human cancer cells. *Journal of Medicinal Chemistry(ACS Publications)*, (50): 1916–24.

Tardito, S., Marchio, L. 2009. Copper Compounds in Anticancer Strategies. *Current Medicinal Chemistry*, (16): 1325–1348.

Ting, J.M., Navale, T.S., Bates, F.S., Reineke, T.M. 2014. Design of tunable multicomponent polymers as modular vehicles to solubilize highly lipophilic drugs. *Macromolecules*, (47): 6554-6565.

Trejo-Solis, C., Palencia, G., Zuniga, S., Rodriguez-Ropon, A., Osorio-Rico, L., Luvia, S.T., Gracia-Mora, I., Marquez-Rosado, L., Sanchez, A., Moreno-Garcia, M.E., Cruz, A., Bravo-Gomez, M.E., Ruiz-Ramirez, L., Rodriguez-Enriquez, S., Sotelo, J. 2005. Cas II gly induces apoptosis in glioma C6 cells in vitro and in vivo through caspase-dependent and caspase-independent mechanisms. *Neoplasia*, (7): 563–574.

Ullah, M.F., Khan, H.Y., Zubair, H., Shamim, U., Hadi, S.M. 2011. The antioxidant ascorbic acid mobilizes nuclear copper leading to a prooxidant breakage of cellular DNA: implications for chemotherapeutic action against cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, (67): 103-10.

Urquiola, C., Gambino, D., Cabrera, M., Lavaggi, M.L., Cerecetto, H., Gonzalez, M. 2008. New copper-based complexes with quinoxaline N-1,N-4-dioxide derivatives, potential antitumoral agents. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (102): 119–26.

Van Rijt, S.H., Sadler, P.J. 2009. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. *Drug Discovery Today*, (14): 1089–1097.

- Varna D., Hatzidimitriou A.G., Velali E., Pantazaki A.A., Aslanidis P. 2015.** Structural diversity in dinuclear copper(I) halide complexes of 2,4-dithiouracil: Synthesis, crystal structures, induction of DNA damage and oxidative stress mediated by ROS. *Polyhedron*, (88): 40-47.
- Vogelstein, A., Kinzler, K.W. 1993.** The multistep nature of cancer. *Trends in Genetics*, (9): 138–41.
- Vos, S.M., Tretter, E.M., Schmidt, B.H., Berger, J.M. 2011.** All tangled up: how cells direct, manage and exploit topoisomerase function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, (12): 827–841.
- Vyas, K.M., Jadeja, R.N., Patel, D., Devkar, R.V., Gupta, K. 2014.** Effect of ligand substitution in pyrazolone based binary and ternary Cu(II) complexes on DNA binding, protein binding and anti-cancer activity on A549 lung carcinoma cell lines. *Polyhedron*, (80): 20–33.
- Wang, D., Lippard, S.J. 2005.** Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 4(4): 307-20.
- Wang, J.C. 2002.** Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, (3): 430–440.
- Wang, X.Y., Guo, Z.J. 2008.** Towards the rational design of platinum(II) and gold(III) complexes as antitumour agents. *Dalton Transactions*, (12): 1521–1532.
- Waterhouse C., Jeanpetre N., Keilson J. 1979.** Gluconeogenesis from alanine in patients with progressive malignant disease. *Cancer Research*, (39): 1968-72.
- Weijl, N.I., Cleton, F.J., Osanto, S. 1997.** Free radicals and antioxidants in chemotherapy-induced toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 23(4): 209-240.
- Weinstein, M., Begemann, P., Zhou, E.K., Han, A., Sgambato, Y., Doki, N., Arber, M., Ciaparrone, H., Yamamoto, H. 1997.** Disorders in cell circuitry associated with multistage carcinogenesis: exploitable targets for cancer prevention and therapy. *Clinical Cancer Research*, (3): 2696–702.
- White, A.C., Sousa, A.M., Blumberg, J., Ryan, H.F., Fanburg, B.L., Kayyali, U.S. 2006.** Plasma antioxidants in subjects before hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 38(7): 513-520.
- Wildburger, R., Mrakovcic, L., Stroser, M., Andrisic, L., Borovic Sunjic, S., Zarkovic, K., Zarkovic, N. 2009.** Lipid peroxidation and age-associated diseases-cause or consequence?:Review Citation. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 29(1): 189-193.
- Williams, G.M., Jeffrey, A. 2000.** Oxidative DNA damage: endogenous and chemically induced. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, (32): 283–92.
- Yin, F., Zhu, J., Hao, J., Cui, J., Yang, J. 2013.** Synthesis, characterization, crystal structure and antitumor activities of a novel demethylcantharidato bridged copper(II) phenanthroline complex. *Science China Chemistry*, (56): 481–489.

Yokuş, B., Akdağ, M.Z., Dasdağ, S., Çakır, D.Ü., Kızıl, M. 2008. Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields Cause Oxidative DNA Damage in Rats. *International Journal of Radiation Biology*, 8 (10): 789-795.

Yokuş, B., Çakır, D.Ü. 2002. İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, (5): 535-43.

Yokuş, B., Mete, N. 2003. Oksidatif DNA hasarı. *Klinik Laboratuar Araştırma Dergisi*, 7(2): 51-64.

Yoshida, D., Ikeda, Y., Nakazawa, S. 1993. Quantitative analysis of copper, zinc and copper/zinc ratio in selected human brain tumors. *Journal of Neuro-Oncology*, (16): 109-15.

Zadák, Z., Hyspler, R., Tichá, A., Hronek, M., Fikrová, P., Rathouská, J., Hrnčiariková, D., Stetina, R. 2009. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiological Research*, 58 (1): 13-17.

Zeglis, B.M., Divilov, V., Lewis, J.S. 2011. Role of metalation in the topoisomerase II α inhibition and antiproliferation activity of a series of α -heterocyclic-N4-substituted thiosemicarbazones and their Cu(II) complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*, (54): 2391–2398.

Zhang, M., Qing, G., Sun, T. 2012. Chiral biointerface materials. *Chemical Society Reviews*, (41): 1972-1984.

Zhang, S., Tu, C., Wang, X., Yang, Z., Zhang, J., Lin, L., Ding, J., Guo, Z. 2004. Novel Cytotoxic Copper(II) Complexes of 8-Aminoquinoline Derivatives: Crystal Structure and Different Reactivity towards Glutathione. *European Journal of Inorganic Chemistry*, (20): 4028–4035.

Zhang, S., Zhu, Y., Tu, C., Wei, H., Yang, Z., Lin, L., Ding, J., Zhang, J., Guo, Z. 2004. A novel cytotoxic ternary copper(II) complex of 1,10-phenanthroline and l-threonine with DNA nuclease activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (98): 2099–2106.

Zhou, W., Wang, X., Hu, M., Guo, Z. 2013. Improving nuclease activity of copper(II)-terpyridine complex through solubilizing and charge effects of glycine. *Journal of Inorganic Biochemistry*, (121): 114–120.

Zhu, T., Chen, R., Yu, H., Feng, Y., Chen, J., Lu, Q., Xie, J., Ding, W., Ma, T. 2014. *Molecular Medicine Reports*, (10): 2477–2482.

Zorbas, H., Keppler, B.K. 2005. Cisplatin damage: are DNA repair proteins saviors or traitors to the cell? *Chembiochem*, 6(7): 1157-66.

Zowczak, M., Iskra, M., Torliński, L., Cofta, S. 2001. Analysis of serum copper and zinc concentrations in cancer patients. *Biological Trace Element Research*, (82): 1-8.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Neylan ORAL
Doğum Yeri ve Tarihi : Bursa / 1990
Yabancı Dili : İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)
Lise : Bursa Gazi Anadolu Lisesi/2004-2008
Lisans : Uludağ Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü/ 2008-2013
Yüksek Lisans : U.Ü. F.B.E. Biyoloji A.B.D. Genel Biyoloji Bilim
Dalı/ 2013-2016.
İletişim : neylanoral@gmail.com

