MCF-7 VE PC-3 HÜCRE HATLARINDA, HÜCRE CANLILIĞI VE DNA HASARI ÜZERİNE TRPV4 ANTAGONİSTİ RN 1734'ÜN ETKİLERİ

Effect of TRPV4 Antagonist RN 1734 on DNA Damage and Cell Viability in MCF-7 and PC-3 Cell Lines

Murat ÇAKIR[1] (0000-0002-2066-829X), Yavuz ERDEN[2] (0000-0002-2066-829X)

[1]Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Yozgat, 66200, Türkiye

[2]Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Bartın, 74100, Türkiye

Murat ÇAKIR, Dr. Öğr. Üyesi
Yavuz ERDEN, Dr. Öğr. Üyesi

İletişim:
Dr. Öğr. Üyesi Murat ÇAKIR
Bozok Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Yozgat, 66200, Turkey
Tel: +905056682719
e-mail:
murat.cakir@bozok.edu.tr

Geliş tarihi/Received: 08.07.2019
Kabul tarihi/Accepted: 23.07.2019
DOI: 10.16919/bozoktip.588740

Bozok Tıp Derg 2019;9(3):134-39
Bozok Med J 2019;9(3):134-39

ÖZET

Amaç: Hücre içi kalsiyum (Ca^2+) sinyali; hücre proliferasyonu ve farklılaşması, gen transkripsiyonu, apoptozis gibi birçok hücresel süreçte rol oynar. Yapılan çalışmalarda Ca^2+ sinyalinin kanser ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) kanalları hücre zarında bulunan Ca^2+ geçirgen non-selekif katyon kanalıdır. TRPV4 kanalları vücutta birçok dokuda yaygın olarak eksprese edilmektedir. Hücre içi Ca^2+ miktarının düzenlenmesinde etkisi olan TRPV4 kanallarının kanser hücrelerinin proliferasyonu, apoptozis, migrasyonu ve tümor anjiogenezi ile ilgili önemli rolleri olduğu görülmüştür. Biz bu çalışmada TRPV4 antagonisti olan RN 1734'ün, insan prostat (PC-3) ve insan meme (MCF-7) kanseri hücre hatlarında hücre canlılığı ve DNA hasarı üzerine etkilerini araştırdık.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmamızda insan prostat (PC-3) ve insan meme (MCF-7) kanseri hücre hatları kullanıldı. RN 1734 1, 5, 25, 50 ve 100 µM'lik konsantrasyonlarda, 24 saatlik PC-3 ve MCF-7 hücre canlılığına olan etkisi 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromid (MTT) yöntemiyle ölçüldü. RN 1734'ün DNA hasarına etkisi Comet yöntemine göre belirlendi.

Bulgular: 24 saat süreyle RN 1734'ün özellikle 50 ve 100 µM'lik konsantrasyonlarıyla inkübe edilen PC-3 ve MCF-7 hücrelerde canlılık düzeyi önemli ölçüde azaldı ($p<0.05$). Ayrıca 100 µM'lik konsantrasyonda RN 1734 uygulaması sonrası hücre DNA hasarı düzeyinde anlamlı artışın olduğu görüldü ($p<0.05$).

Sonuç: Biz bu çalışmada TRPV4 antagonisti olan RN 1734'ün, PC-3 ve MCF-7 hücre hatlarında hücre canlılığını azalttığını ve DNA hasarına neden olduğunu bulduk. Bizim bulgularımız, TRPV4 antagonisti uygulanmasının kanser hücrelerine karşı yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: *RN 1734; TRPV4; Kanser; PC-3; MCF-7; Comet yöntemi; MTT*

ABSTRACT

Aim: Intracellular calcium (Ca^2+) signal pathway has a role in cell proliferation and differentiation, gene transcription and apoptosis. Studies have shown that Ca^2+ signal is related to cancer. Transient receptor potential vanilloid 4 channels are Ca^2+ permeable non-selective cation channels in the cell membrane. TRPV4 channels are commonly expressed in many tissues in the body. TRPV4 channels, which have an effect on the regulation of intracellular Ca^2+ levels, have been shown to have important roles in the proliferation, apoptosis, migration and tumor angiogenesis of cancer cells. In this study, we investigated the effects of RN 1734, TRPV4 antagonist, on cell viability and DNA damage in human prostate (PC-3) and human breast (MCF-7) cancer cell lines.

Materials and Methods: Human prostate (PC-3) and human breast (MCF-7) cancer cell lines were used in our study. The effect of RN 1734 on 1, 5, 25, 50 and 100 µM concentrations on 24-hour PC-3 and MCF-7 cell viability was determined by 3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5- diphenyltetrazolium bromide (MTT) method. The effect of RN 1734 on DNA damage was determined according to Comet Assay method.

Results: The viability of PC-3 and MCF-7 cells, which were incubated for 24 hours with RN 1734, especially at concentrations of 50 and 100 µM, was significantly reduced ($p<0.05$). In addition, there was a significant increase in cell DNA damage level after RN 1734 100 µM concentration application ($p <0.05$).

Conclusions: In this study, we found that RN 1734, TRPV4 antagonist, reduces cell viability and causes DNA damage in PC-3 and MCF-7 cell lines. Our findings suggest that administration of TRPV4 antagonist may be a new therapeutic approach to cancer cells.

Keywords: RN 1734; TRPV4; Cancer; PC-3; MCF-7; Comet assay; MTT

GİRİŞ

Organizmaların hayatta kalabilmesi için hücrelerin çoğalması gerekmektedir. Normal şartlarda hücrelerin çoğalmasının dengeli bir şekilde devam etmesi gerekmektedir. Bu denge ise hücre içinde birçok gen tarafından düzenlenmektedir. Bazı genler hücre çoğalmasını tetiklerken, bazıları ise aşırı hücre çoğalmasını baskılayıcı etki göstermektedir. Genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak genlerde görülen anormallikler, hücre çoğalmasının kontrolsüz bir şekilde artışı ile sonuçlanabilmektedir [1]. Kontrolsüz olarak çoğalan hücrelerin başka dokulara yayılmasıyla karakterize olan kanser hastalığı, dünyada sayısı gittikçe artan önemli bir sağlık problemidir [2]. Kanser, dünyadaki tüm ölüm nedenleri arasında ilk sırada yer alırken, Türkiye'de kardiyovasküler hastalıklardan sonra en çok görülen ölüm nedenidir [3]. Türkiye'de kadınlarda en sık görülen kanser türleri arasında, meme kanseri 1. sırada, erkeklerde en sık görülen kanser türleri arasında ise prostat kanseri 1. sırada bulunmaktadır [4].

Hücre içi kalsiyum (Ca^{2}+) sinyali; hücre proliferasyonu ve farklılaşması, gen transkripsiyonu, apoptozis gibi birçok hücresel süreçte rol oynar. Yapılan çalışmalarda Ca^{2}+ sinyalinin kanser ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [5]. Transient receptor potential vanilloid (TRPV) kanallarının 6 üyesinden biri olan TRPV4 kanalları hücre zarında bulunan, Ca^{2}+ geçirgen non-selekif katyon kanalıdır. TRPV4 kanalları vücutta birçok dokuda yaygın olarak eksprese edilmektedir [6]. Hücre içi Ca^{2}+ miktarının düzenlenmesinde rolü olan TRPV4 kanallarının kanser hücrelerinin proliferasyonu [7], apoptozis [8], migrasyonu [9] ve tümör anjiogenezi [10] ile ilgili önemli rolleri olduğu görülmüştür.
Biz bu çalışmada, insan prostat (PC-3) ve insan meme (MCF-7) kanseri hücre hatlarında TRPV4 antagonisti olan RN 1734'ün hücre canlılığı ve DNA hasarı üzerine etkilerini araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hücrelerin Çoğaltılması

Bileşiğin antikanser özelliğinin belirlenmesi amacıyla insan prostat (PC-3, ATCC) ve meme (MCF-7, ATCC) kanseri hücre hatları kullanıldı. Hücreler öncelikli olarak sıvı azot içerisinden çıkartıldıktan sonra 75 cm2'lik kültür flasklarına ekildi. Ekimi gerçekleştirilen PC-3 hücreleri RPMI-1640 (Sigma-Aldrich R8758, ABD) medyumla (içerisine %10 FBS, 100 U/mL penisilin ve 0.1 mg/mL streptomisin ilave edilerek hazırlanan), MCF-7 hücreleri ise DMEM (Gibco 41965039, İngiltere) medyumla (içerisine %10 FBS, 100 U/mL penisilin ve 0.1 mg/mL streptomisin, 10µg/ml insülin ilave edilerek hazırlanan) beslendi. Hücrelerin medyumları haftada iki defa değiştirildi ve bütün basamaklarda hücreler %5 CO_2'li ortamda 37°C sıcaklıkta (Thermo Forma II CO_2 İnkübatör, ABD) inkübe edildi. Flask tabanında konfulent olan hücreler, tripsin-EDTA (Gibco 25300054, İngiltere) solüsyonu kullanılarak flasklardan kaldırıldı ve %0.4 tripan mavisi ile boyandıktan sonra inverted mikroskop (Optec BDS400, Çin) altında hücre sayımları gerçekleştirildi. Hücre canlılık oranı %90 ve üstü olduğu durumda deneysel çalışmalara geçildi [11].

MTT yöntemi (Hücre Canlılığının Belirlenmesi)

RN 1734'ün (Santa Cruz sc-296273, ABD) 1, 5, 25, 50 ve 100 µM'lık konsantrasyonlarının insan prostat ve meme kanseri hücrelerinde canlılığa olan etkisi, hücre canlılığının değerlendirilmesinde oldukça yaygın kullanılan 3-(4,5-dimetiltiazol–2-il)-difeniltetrazolium bromid (MTT) yöntemine göre belirlendi. Bu yöntem MTT bileşiğinin tetrazolium halkasını parçalayabilmesi özelliğine dayanır. MTT canlı hücrelere absorbe olur ve reaksiyon mitokondriyal süksinat dehidrogenaz tarafından katalize edilerek mavi-mor renkli, suda çözünmeyen formazana indirgenir [12,13]. Bu reaksiyon yalnızca aktif mitokondrinin bulunduğu hücrelerde gerçekleşir. Buda hüre canlılığının bir belirteci olarak kabul edilir ve oluşan renk spektrofotometrik olarak ölçülerek yaşayan hücre sayısı ile ilişkilendirilir.

Canlılık düzeyleri belirlenen hücrelerin 96 kuyucuklu plakalara her bir kuyucuğa 15x103 hücre gelecek şekilde ekimleri gerçekleştirildi. Plakalar bir gün süreyle CO_2'li ortamda inkübe edildi ve sonrasında RN 1734'nin 1, 5, 25, 50 ve 100 µM'lık ayarlanan konsantrasyonları ile 24 saat muamele edildi. Bu süre sonrasında hücre canlılığında meydana gelen değişimlerin belirlenmesi için 0,5mg/ml MTT (Sigma-Aldrich M2128, ABD) çalışma solüsyonu hazırlandı ve herbir kuyucuğa hazırlanan MTT solüsyonundan 100 µL ilave edilerek 3 saat süresince CO_2'li inkübatörde inkübasyona

bırakıldı. İnkübasyon sonunda plakalardaki hücrelerin optik densisiteleri mikroplaka okuyucuda (Thermo MultiskanGo, ABD) 570 nm dalga boyunda okundu [14]. Kontrol kuyucukları (sadece hücre ve medyum bulunan kuyucuklar) okutularak, elde edilen absorbans değerlerinin ortalaması alındı ve bu değer %100 canlı hücre olarak kabul edildi. RN 1734 ve çözücü (DMSO) uygulanan kuyucuklardan elde edilen absorbans değerleri, kontrol absorbans değerine oranlandı ve yüzde canlılık değerleri hesaplandı [15,16]. RN 1734'ün hücre canlılığına etkisi çözücüye kıyasla analiz edildi. Bu deneyler farklı günlerde, birbirinden bağımsız olarak en az 10 kez tekrarlandı.

Genotoksisite (DNA Hasarı) Çalışmaları

Tek hücre jel elektroforezi olarak da bilinen "Comet yöntemi", memelilerin DNA hasarını (Genotoksisite) belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir [17]. Çalışmada kullanılacak olan Nötral Comet yöntemi Devlin vd. tarafından tarif edilen metotta minör değişiklikler yapılarak gerçekleştirildi [18]. İlk olarak fosfat tamponu içerisinde mikrodalga fırında çözdürülen %1'lik high melting agarose (HMA; Carl Roth 2267.4, Almanya) ile rodajlı lamlar kaplandı ve lamlar karanlıkta 1 gün süreyle kurumaya bırakıldı. 6 kuyucuklu plakalarda kültüre edilen PC-3 ve MCF-7 hücreleri (1x106 hücre), test bileşiğinin 100 µM konsantrasyonu ile 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra hücreler flask tabanından kaldırıldı ve hücre miktarı mikroskop altında sayıldı. Her bir gruptan yaklaşık 1x104 hücre alınarak üzerine 75 µL 40-42 °C sıcaklıktaki low melting agarose (Fisher BioReagents BP165, İngiltere) eklendi. Sonrasında hazırlanan bu örnekler, HMA ile kaplanmış lam üzerine yayıldı ve lamların üzeri hızlı bir şekilde lamelle kapatıldı. Hazırlanan preparatta agarın katılaşması için lamlar 10-15 dk süreyle +4 °C'de ve karanlıkta bırakıldı. Daha sonra lamlar stok lizis solüsyonundan (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, pH: 10) taze olarak hazırlanan çalışma solüsyonu (stok lizis solüsyonuna, %1 Triton X-100 ve %10 DMSO ilave edilerek hazırlanan) içerisine yerleştirildi ve karanlıkta +4 °C'de 1 saat süreyle bekletildi [19]. Lizis işleminden sonra, hazırlanan lamlar elektroforez tankına (Bio-Rad, ABD) aynı yönlü olarak yerleştirildi ve tankın voltajı 25 V (0.83 V/cm), amperi de 300 mA'e sabitlenerek 20 dk elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Elektroforez sonrasında lamlar nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris, pH 7.5) ile 3 kez 5 dk süreyle +4 °C'de yıkandı. Son olarak 50 µL 20 µg/mL ethidium bromide ile boyanan lamlar, lamel kapatılarak floresans mikroskop (Carl Zeiss / Scope A1, Almanya) altında fotoğraflandı. Her lamdan rastgele en az 25 hücre sayıldı ve her görüntü kuyruklu yıldız kuyruğundaki floresan yoğunluğuna göre sınıflandırıldı. Skorlamada 0, 1, 2, 3 veya 4 (Skor 0: hasar görmemiş, Skor 4: maksimum hasar görmüş) değerleri kullanıldı [20,21].

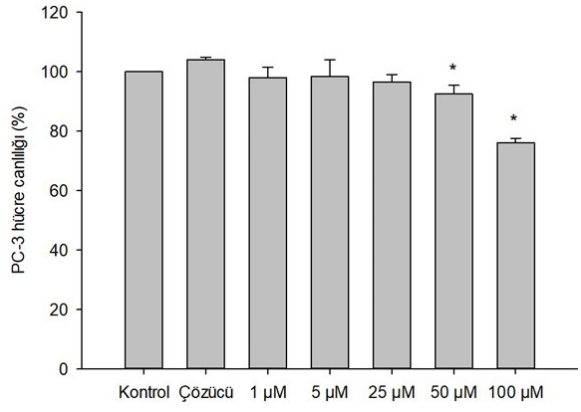
İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler SigmaPlot (for Windows version 12.0, Almanya) paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde One Way ANOVA on Rank ve çoklu karşılaştırmalarda Bonferroni t-test kullanıldı. Nicel veriler ortalama ± standart hata (Ort. ± SH) olarak ifade edildi ve $p<0.05$ değerliği anlamlı kabul edildi.

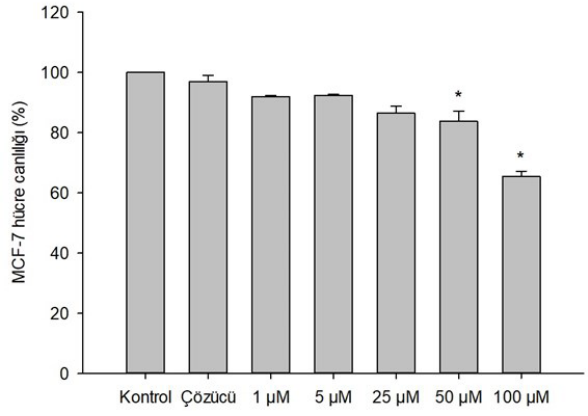
BULGULAR

RN 1734'ün PC-3 hücre canlılığına olan etkileri Şekil 1'de sunulmuştur. 1, 5, 25, 50 ve 100 µM'lik konsantrasyonlarda uygulanan RN 1734'ün, 50 ve 100 µM'lik konsantrasyonlarda PC-3 hücre canlılığını anlamlı olarak azalttığı belirlendi ($P<0.05$).

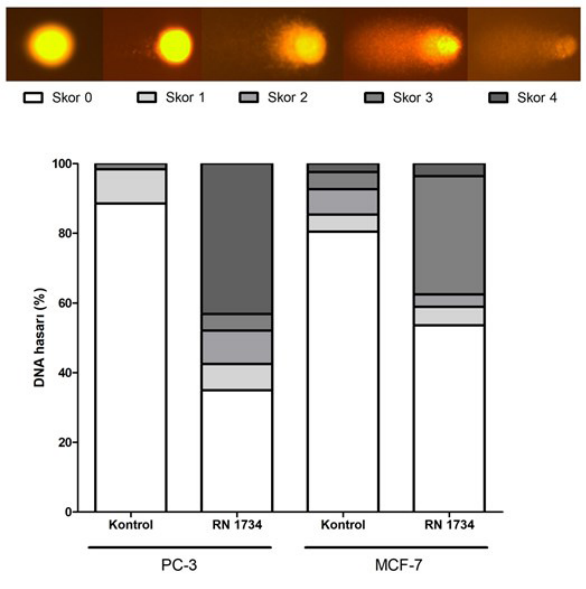
Şekil 1. PC-3 hücre hattına RN 1734 uygulanmasından 24 saat sonra hücre canlılık oranlarında meydana gelen % değişiklikler (* $p<0.05$; çözücü grubuna kıyasla diğer gruplar).



Şekil 2'de sunulmuştur. Yapılan istatistiksel incelemeler sonrasında RN 1734'ün 50 ve 100 µM'lık konsantrasyonlarının hücre canlılığında anlamlı azalmaya neden olduğu gözlendi (P<0.05).



Şekil 2. MCF-7 hücre hattına RN 1734 uygulanmasından 24 saat sonra hücre canlılık oranlarında meydana gelen % değişiklikler (* p<0.05; çözücü grubuna kıyasla diğer gruplar).



Şekil 3. RN 1734'ün PC-3 ve MCF-7 hücrelerinde DNA hasarına etkisi. Kontrol grubunda yer alan PC-3 ve MCF-7 hücrelerinde hasarsızlık düzeyi (Skor 0), RN 1734 uygulaması sonrasında önemli düzeyde azaldı (p<0.05). Ayrıca uygulama sonrası DNA hasarında Skor 3-4 düzeyinde artış gözlendi.

Test bileşiği ile muameleden sonra insan meme ve prostat kanseri hücrelerindeki DNA hasarı düzeyleri Şekil 3'de gösterilmiştir. Kontrol grubunda yer alan PC-3 ve MCF-7 hücrelerinin Skor 0 DNA hasarsızlık düzeyleri sırasıyla % 88,52±4,51 ve % 80,48±3,57 olarak belirlendi. RN 1734 uygulaması sonrası bu düzeyler sırasıyla % 34,93±2,78 ve % 53,57±4,24 seviyelerine indi ve bu değişim istatistiksel olarak anlamlı görüldü (p<0.05). Buna ilave olarak RN 1734 uygulaması sonrası hücre DNA hasarında (özellikle Skor 3 ve Skor 4 düzeylerinde) anlamlı artışlar saptandı (p<0.05).

TARTIŞMA

Kanser, dünya çapında gittikçe vaka sayısı artan önemli bir sağlık problemidir. Toplumlarda hem maddi hem de manevi kayıp ve zorluklara yol açmaktadır. Yayımlanan dünya kanser verilerine göre; ölüm nedenleri arasında kanser birinci sırada yer almaktadır [2]. Dünyada 2012 yılında 14 milyon yeni kanser vakası, 8,2 milyon kanserden ölüm bildirilmiştir. önümüzdeki 20 yılda kanser vaka beklentilerinin yaklaşık %70 artacağı düşünülmektedir. Kanser konusunda birçok araştırma yapılmasına karşın, hastalığın tedavi ve önlenmesine yönelik çözüm yolu henüz bulunabilinmiş değildir [22]. Hücre içi Ca^{2+} sinyali; proliferasyon, gen transkripsiyonu, apoptozis gibi hücresel süreçleri düzenler. Hücre fonksiyonlarının uygun olarak devam edebilmesi için bu süreçler sıkı bir şekilde denetlenmelidir [23]. Kanser gibi birçok patolojik durumlarda anormal Ca^{2+} sinyali sözkonusudur [24,25]. Bu yüzden hücre içi Ca^{2+} seviyesinin düzenlenmesinde rol oynayan proteinler ve inhibitör-aktivatör maddeler birçok araştırmanın konusu olmuştur Son yıllarda yapılan çalışmalarda tümör invazyonu ve metastazında Ca^{2+} sinyalinin rolü araştırılmıştır. Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonunu düzenleyen çeşitli hücresel yapıların (protein ve iyon kanalı gibi) kanserdeki proliferatif ve metastatik süreçle ilişkili olduğu gösterilmiştir [5]. Örneğin T-tipi kalsiyum kanallarının inhibisyonunun kanser hücre proliferasyonunu azalttığı ve kanser hücrelerinin ölümünü artırdığı gösterilmiştir [26].

DNA çeşitli reaktif moleküllerin hedefi olan, hasara duyarlılığı yüksek bir moleküldür. DNA hasarı normal DNA metabolizması sırasında kendiliğinden veya bazı çevresel faktörlerin etkisiyle oluşmaktadır [27]. Comet

yöntemi insan kanser hücre hatları üzerindeki in vitro çalışmalarda, ilaçların ve radyoterapinin antineoplastik etkinliğinin değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir [28].

Vücutta birçok dokuda varlığı gösterilen TRPV4 kanallarının, anormal ekspresyon seviyesinin tümör oluşumu ve metastazı ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir. Mide, akciğer ve kolorektal kanserlerde TRPV4 ekspresyon seviyesi, normal dokulardan daha yüksek iken; prostat ve özafagus kanserlerinde normal dokulardan daha düşük bulunmuştur [6]. TRPV4 ekspresyon seviyesinin meme kanseri hücrelerinin metastatik yeteneğiyle korele olduğu, metastatik yayılım sırasında TRPV4 kanal ekspresyonunun anormal şekilde değiştiği gösterilmiştir [29]. Başka bir çalışmada da benzer şekilde düşük metastatik özelliğe sahip kanser türlerinde TRPV4 kanal ekspresyonu düşük, yüksek metastatik niteliğe sahip malignant kanser türlerinde TRPV4 kanal ekspresyonu yüksek bulunmuştur [30]. TRPV4 genlerinin susturulmasının kolon kanser büyümesini yavaşlatıp, apoptozis ve otofajiyi artırdığı gösterilmiştir [31]. Bu bilgilerden yola çıkılarak TRPV4 kanalının farmakolojik inhibisyonunun kanser tedavisinde etkili olabileceği düşünebilinir. Nitekim TRPV4'ün farmakolojik inhibisyonunun hepatoselüler karsinomada in vitro olarak proliferasyon, migrasyon yeteneğini, in vivo olarak da tümör büyümesini baskıladığı gösterilmiştir [32]. Başka bir çalışmada TRPV4'ün farmakolojik aktivasyonunun glioma hücrelerinde migrasyon ve invazyonu artırırken, inhibisyonunun migrasyon ve invazyonu baskıladığı rapor edilmiştir [33]. Literatürde TRPV4 kanal aktivasyonunun antikanserojenik etkileri olduğuna dair de çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin TRPV4 kanallarının tümör anjiogenezinde rol oynadığı, kanal aktivasyonunun tümör anjiogenezini baskıladığı gösterilmiştir [34]. Zheng ve ark. yaptığı çalışmada TRPV4 kanal aktivasyonunun melanoma hücrelerinde proliferasyonu azaltıp, apotosizi artırdığı gösterilmiştir [35]. Başka bir çalışmada kanal aktivasyonunun in vitro olarak hücre canlılığını azalttığı, in vivo olarak meme kanserinde tümör büyümesini baskıladığı bildirilmiştir [8]. Bu çalışmada bizim çalışmamızda kullandığımız hücre hatları kullanılmamıştır. TRPV4 kanalları hücre içi Ca^{2}+ seviyesini değiştirebileceği için hücre içi sinyal yollarını ve tümör mikroçevresini etkileyebilir. Kanser tedavisinde kullanılan birçok madde sitotoksik özelliğe sahip olmasına rağmen, sadece kanser hücrelerine değil aynı zamanda sağlıklı vücut hücrelerine de zarar vermektedir. Bu yüzden kanser tedavisine yönelik spesifik ilaç geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır [36].

Biz çalışmamızda MCF-7 ve PC-3 hücre hattında 50 ve 100 µM konsantrasyonlarda hücre canlılığında anlamlı azalma bulduk. Bizim çalışmamız hücre canlılığını ölçmeye yönelik in vitro bir çalışmadır. Elde ettiğimiz verilerden yola çıkarak RN 1734'ün hücre canlılığına ve DNA hasarına olan etkisinin hangi moleküler mekanizmalar üzerinden gerçekleştirdiğini anlamaya yönelik daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.
Biz bu çalışmada RN-1734'nın MCF-7 ve PC-3 hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkileri olduğunu ve DNA hasarına neden olduğunu bulduk. Bizim bulgularımız seçici bir TRPV4 antagonisti olan RN 1734'ün insan prostat ve meme kanseri hücre canlılığını azaltıcı etkisinin, hücre DNA'sı üzerine yıkımlayıcı etkisinden kaynaklanabileceğini göstermektedir. RN-1734'nın etkisine yönelik in vivo çalışmalara ve etki mekanizmasını anlamaya yönelik daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC (2014) Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book: Elsevier health sciences.

2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. (2015) Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. Int J Cancer 136: E359-386.

3. Saatçi E (2014) Dünyada ve Türkiye'de Kanser Epidemiyolojisi. Turkiye Klinikleri Family Medicine-Special Topics 5: 1-8.

4. Gultekin M, Utku E, Ergun A, Sevinc A, Tutuncu S, et al. (2015) Turkiye Kanser Istatistikleri (Cancer Statistics in Turkey). TC Saglik Bakanligi, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu (Turkish Organization for Public Health), Ankara, Turkey.

5. Stewart TA, Yapa KT, Monteith GR (2015) Altered calcium signaling in cancer cells. Biochim Biophys Acta 1848: 2502-2511.

6. Yu S, Huang S, Ding Y, Wang W, Wang A, et al. (2019) Transient receptor potential ion-channel subfamily V member 4: a potential target for cancer treatment. Cell Death Dis 10: 497.

7. Thoppil RJ, Adapala RK, Cappelli HC, Kondeti V, Dudley AC, et al. (2015) TRPV4 channel activation selectively inhibits tumor endothelial cell proliferation. Sci Rep 5: 14257.

8. Peters AA, Jamaludin SYN, Yapa K, Chalmers S, Wiegmans AP,

et al. (2017) Oncosis and apoptosis induction by activation of an overexpressed ion channel in breast cancer cells. Oncogene 36: 6490-6500.

9. Lee WH, Choong LY, Jin TH, Mon NN, Chong S, et al. (2017) TRPV4 plays a role in breast cancer cell migration via Ca(2+)-dependent activation of AKT and downregulation of E-cadherin cell cortex protein. Oncogenesis 6: 39.

10. Thoppil RJ, Cappelli HC, Adapala RK, Kanugula AK, Paruchuri S, et al. (2016) TRPV4 channels regulate tumor angiogenesis via modulation of Rho/Rho kinase pathway. Oncotarget 7: 25849-25861.

11. Koyunoğlu F, Tekin S, Konar V, Sandal S (2013) İnsan meme kanseri hücre serileri (mcf-7) üzerine apelin-13'ün etkilerinin araştırılması: ın vitro bir çalışma. İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi 1.

12. Denizot F, Lang R (1986) Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. J Immunol Methods 89: 271-277.

13. Horáková Kn, Šovčıková A, Seemannová Z, Syrová D, Bušányová Kn, et al. (2001) Detection of drug-induced, superoxide-mediated cell damage and its prevention by antioxidants. Free Radical Biology and Medicine 30: 650-664.

14. Mosmann T (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 65: 55-63.

15. Tekin S, Erden Y, Sandal S, Yilmaz B (2015) Is irisin an anticarcinogenic peptide? Med-Science 4: 2172-2180.

16. Koran K, Tekin Ç, Çalışkan E, Tekin S, Sandal S, et al. (2017) Synthesis, structural and thermal characterizations and in vitro cytotoxic activities of new cyclotriphosphazene derivatives. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements 192: 1002-1011.

17. Olive PL, Banáth JP (2006) The comet assay: a method to measure DNA damage in individual cells. Nature Protocols 1: 23.

18. Devlin HL, Mack PC, Burich RA, Gumerlock PH, Kung HJ, et al. (2008) Impairment of the DNA repair and growth arrest pathways by p53R2 silencing enhances DNA damage-induced apoptosis in a p53-dependent manner in prostate cancer cells. Mol Cancer Res 6: 808-818.

19. Beytur A, Tekin S, Keleştimur T, Ergin Z, Sandal S (2011) Yeni sentezlenen bir tiyosemikarbazon türevinin prostat kanseri hücre kültürleri üzerine antikanserojenik özelliklerinin belirlenmesi: In vitro bir çalışma. FÜ Sağ Bil Tıp Derg 25: 25-32.

20. Acar U, Inanan BE, Zemheri F, Kesbic OS, Yilmaz S (2018) Acute exposure to boron in Nile tilapia (Oreochromis niloticus): Median-lethal concentration (LC50), blood parameters, DNA fragmentation of blood and sperm cells. Chemosphere 213: 345-350.

21. Aycicek A, Kocyigit A, Erel O, Senturk H (2008) Fototerapia causa danos ao DNA de leucócitos mononucleares periféricos em recém-nascidos a termo. Jornal de Pediatria 84: 141-146.

22. BAKAR C (2017) Dünyada ve Türkiye'de Kanser Epidemiyolojisi. Turkiye Klinikleri Journal of Medical Genetics-Special Topics 2: 49-59.

23. Berridge MJ, Bootman MD, Roderick HL (2003) Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. Nat Rev Mol Cell Biol 4: 517-529.

24. Parkash J, Asotra K (2010) Calcium wave signaling in cancer cells. Life Sci 87: 587-595.

25. Missiaen L, Robberecht W, van den Bosch L, Callewaert G, Parys JB, et al. (2000) Abnormal intracellular ca(2+)homeostasis and disease. Cell Calcium 28: 1-21.

26. Dziegielewska B, Gray LS, Dziegielewski J (2014) T-type calcium channels blockers as new tools in cancer therapies. Pflugers Arch 466: 801-810.

27. DİNÇER Y, KANKAYA S (2010) DNA hasarının belirlenmesinde Comet assay. Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences 30: 1365-1373.

28. McKenna DJ, McKeown SR, McKelvey-Martin VJ (2008) Potential use of the comet assay in the clinical management of cancer. Mutagenesis 23: 183-190.

29. Lee WH, Choong LY, Mon NN, Lu S, Lin Q, et al. (2016) TRPV4 Regulates Breast Cancer Cell Extravasation, Stiffness and Actin Cortex. Sci Rep 6: 27903.

30. Fusi C, Materazzi S, Minocci D, Maio V, Oranges T, et al. (2014) Transient receptor potential vanilloid 4 (TRPV4) is downregulated in keratinocytes in human non-melanoma skin cancer. J Invest Dermatol 134: 2408-2417.

31. Liu X, Zhang P, Xie C, Sham KWY, Ng SSM, et al. (2019) Activation of PTEN by inhibition of TRPV4 suppresses colon cancer development. Cell Death Dis 10: 460.

32. Fang Y, Liu G, Xie C, Qian K, Lei X, et al. (2018) Pharmacological inhibition of TRPV4 channel suppresses malignant biological behavior of hepatocellular carcinoma via modulation of ERK signaling pathway. Biomed Pharmacother 101: 910-919.

33. Ou-Yang Q, Li B, Xu M, Liang H (2018) TRPV4 promotes the migration and invasion of glioma cells via AKT/Rac1 signaling. Biochem Biophys Res Commun 503: 876-881.

34. Adapala RK, Thoppil RJ, Ghosh K, Cappelli HC, Dudley AC, et al. (2016) Activation of mechanosensitive ion channel TRPV4 normalizes tumor vasculature and improves cancer therapy. Oncogene 35: 314-322.

35. Zheng J, Liu F, Du S, Li M, Wu T, et al. (2019) Mechanism for Regulation of Melanoma Cell Death via Activation of Thermo-TRPV4 and TRPV2. J Oncol 2019: 7362875.

36. Tekin S, Beytur A, Çakır M, Tekin Ç, Sandal S. Saksagliptin ve Sitagliptinin Farklı Tip İnsan Kanser Hücre Canlığı Üzerine Etkilerinin Araştırılması. F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg. 2017; 31 (3): 111 - 116.