



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANTİEPİLEPTİKLERİN (LAMOTRİJİN VE
OKSKARBAZEPİN) SIÇAN PROSTAT KANSER
HÜCRELERİ (MAT-LYLU) ÜZERİNE ETKİLERİ:
PROLİFERASYON VE MİGRASYON**

Zeynep EROL

**Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Programı**

Danışman

Prof.Dr. Seyhan ALTUN

Haziran, 2011

İSTANBUL



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ANTİEPİLEPTİKLERİN (LAMOTRİJİN VE
OKSKARBAZEPİN) SIÇAN PROSTAT KANSER
HÜCRELERİ (MAT-LYLU) ÜZERİNE ETKİLERİ:
PROLİFERASYON VE MİGRASYON**

Zeynep EROL

Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Biyoloji Programı

Danışman

Prof.Dr. Seyhan ALTUN

Haziran, 2011

İSTANBUL

Bu alışma 05 / 07 / 2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Genel Biyoloji programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Prof. Dr. Seyhan ALTUN(Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakóltesi

Prof. Dr. şehnaz BOLKENT
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakóltesi

Doç. Dr. Ömür BULAN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakóltesi

Doç. Dr. Gül ÖZCAN ARICAN
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakóltesi

Doç. Dr. Ali KARAGÖZ
İstanbul Üniversitesi
Fen Fakóltesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin 4450 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince yorum ve önerileri ile bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen ve tecrübelerini benimle paylaşan değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Seyhan ALTUN'a,

Çalışmada kullanılan, Dunning modeli sıçan prostat kanseri soyu olan Mat-LyLu hücrelerinin teminini sağlayan, Imperial College of Science, Technology and Medicine, Biological Science Department (Londra, İngiltere) öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mustafa B. A. DJAMGOZ'e,

Tez çalışmama sağladıkları katkılarını, arkadaşlıklarını ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Arş. Gör. Şenay YILDIRIM'a, Arş. Gör. İlknur BUGAN'a ve Arş. Gör. Dr. Hatice GÜMÜŞHAN'a; bu zorlu süreci benimle paylaşan ve yardımlarıyla yanımda olan arkadaşlarım Selda ÖZTÜRK'e, Kadir Gökhan SÜSLÜ'ye, yüksek lisans öğrencisi Güner SARIKAYA'ya, Arş. Gör. Miray ÜSTÜNTÜRK'e, Biyoloji Bölümü öğrencisi Cansu ÖZKÖKLESEN'e,

Hiçbir fedakarlıktan kaçınmayarak destekleriyle her zaman yanımda yer alan, beni güçlendiren ve yolumda ilerlememde büyük emeği olan anneme, babama ve kardeşlerime, sonsuz teşekkür eder ve minnettarlığımı sunarım.

Haziran, 2011

Zeynep EROL

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	vi
SEMBOL LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. PROSTAT BEZİ.....	4
2.2. PROSTAT KANSERİ.....	7
2.3. PROSTAT KANSERİNDE METASTAZ, MİGRASYON VE İYON KANALLARI.....	11
2.3.1. Voltaj Kapılı Sodyum Kanalları ve Tetrodotoksin.....	15
2.4. PROSTAT KANSERİ ARAŞTIRMALARINDA DENEYSEL MODELLER.....	20
2.4.1. Dunning Modeli.....	21
2.5. ANTİEPİLEPTİKLER.....	22
2.6. KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR.....	27
2.6.1. Lamotrijin.....	27
2.6.2. Okskarbazepin.....	28
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	31
3.1. HÜCRE KÜLTÜRÜ.....	31
3.2. KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLARIN HAZIRLANMASI.....	32
3.2.1. Lamotrijin.....	32
3.2.2. Okskarbazepin.....	32
3.2.3. Tetrodotoksin.....	32

3.2.4. Deney Medyumlarının Hazırlanması.....	32
3.3. TOKSİSİTE.....	33
3.4. HÜCRE KİNETİĞİ PARAMETRELERİ.....	33
3.4.1. Hücre Proliferasyonu.....	33
3.4.2. İşaretlenme İndeksi (LI).....	34
3.5. HÜCRE HAREKETİ (MOTİLİTE/MİGRASYON).....	35
3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. LAMOTRİJİN.....	38
4.1.1. Toksisite.....	38
4.1.2. Hücre Proliferasyonu.....	39
4.1.3. İşaretlenme İndeksi.....	40
4.1.4. Hücre hareketi (Motilite/Migrasyon).....	42
4.1.5. Lamotrijin'in Genel Değerlendirmesi.....	43
4.2. OKSKARBAZEPİN.....	44
4.2.1. Toksisite.....	44
4.2.2. Hücre Proliferasyonu.....	45
4.2.3. İşaretlenme İndeksi.....	46
4.2.4. Hücre hareketi (Motilite/Migrasyon).....	48
4.2.5. Okskarbazepin'in Genel Değerlendirmesi.....	49
4.3. TETRODOTOKSİN.....	50
4.3.1. Hücre Hareketi (Motilite/Migrasyon).....	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1.1.	İnsan prostat bezini oluşturan hücre tiplerinin şematik olarak gösterilmesi.....	5
Şekil 2.1.2.	(A) Sagittal kesitte zonların yerleşimi. (B) Prostat bezinin anatomik zonlarının gösterimi.....	6
Şekil 2.3.1.	Metastatik süreç.....	12
Şekil 2.3.2.	Na^+ , Ca^{+2} ve K^+ kanallarındaki artışın, çeşitli kanser tipindeki hücresel süreçlere etkisi.....	14
Şekil 2.3.1.1.	Voltaj kapılı sodyum kanalının yapısı.....	16
Şekil 2.3.1.2.	(A) VGSC'nin α alt ünitesini meydana getiren DI- DIV domainlerinin kanal poru etrafında yerleşimi. (B) VGSC ligandların bağlanma siteleri (1-5)	17
Şekil 2.3.1.3.	TTX'in kimyasal formülü.....	18
Şekil 2.4.1.1.	Dunning sıçan prostatik adenokarsinoma hücre orijinlerinin şematik gösterimi.....	22
Şekil 2.5.1.	Yeni nesil antiepileptiklerin başlıca etki mekanizmaları.....	25
Şekil 2.6.1.1.	LTG'nin kimyasal formülü.....	27
Şekil 2.6.2.1.	OXC'nin kimyasal formülü.....	29
Şekil 3.1.1.	<i>In vitro</i> olarak yetiştirilen Mat-LyLu sıçan prostat kanser hücreleri.....	31
Şekil 3.4.2.1.	Yüksek metastatik Mat-LyLu hücre soyunda DNA sentezi yapan hücreler.....	35
Şekil 3.5.1.	Motilite indeksini belirlemek için kullanılan petrinin alt yüzüne yapılan çizim.....	35
Şekil 3.5.2.	Mat-LyLu hücrelerinde lateral hücre hareketi (migrasyon) A: 0. saat, B: 24. saat, C: 48. saat.....	36
Şekil 4.1.1.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin farklı konsantrasyonlarda uygulanmasıyla elde edilen ölü hücre yüzdeleri ($\pm$ SH).....	39
Şekil 4.1.2.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH).....	40
Şekil 4.1.3.2.	Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).....	41
Şekil 4.1.4.2.	Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksleri (MoI) ($\pm$ SH).....	43
Şekil 4.1.5.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla 48. saatte tespit edilen normalize edilmiş hücre sayısı ve motilite indeksi (MoI) arasındaki ilişki	44

Şekil 4.2.1.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin farklı konsantrasyonlarda uygulanmasıyla elde edilen ölü hücre yüzdeleri ($\pm$ SH).....	45
Şekil 4.2.2.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH).....	46
Şekil 4.2.3.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).....	47
Şekil 4.2.4.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksleri (MoI) ($\pm$ SH).....	49
Şekil 4.2.5.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla 48. saatte tespit edilen normalize edilmiş hücre sayısı ve motilite indeksi (MoI) arasındaki ilişki.....	50
Şekil 4.3.1.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine TTX'in belirlenen konsantrasyonlarda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksleri (MoI) ($\pm$ SH).....	52
Şekil. 5.1.	Mat-LyLu hücreleri üzerine TTX, LTG ve OXC'nin belirlenen konsantrasyonlarda uygulanmasıyla 48. saatte tespit edilen lateral hareket ($\pm$ SH).....	54

TABLO LİSTESİ

Tablo 4.1.2.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH) ve inhibisyon (%) oranları.....	40
Tablo 4.1.3.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).....	41
Tablo 4.1.4.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksi ($\pm$ SH) ve kontrol grubuna oranla deney gruplarının motilite indekslerinde tespit edilen % değişim.....	42
Tablo 4.2.2.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH) ve inhibisyon (%) oranları.....	46
Tablo 4.2.3.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).....	47
Tablo 4.2.4.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksi ($\pm$ SH) ve kontrol grubuna oranla deney gruplarının motilite indekslerinde tespit edilen % değişim.....	48
Tablo 4.3.1.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine TTX'in belirlenen konsantrasyonlarda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksi ($\pm$ SH) ve kontrol grubuna oranla deney gruplarının motilite indekslerinde tespit edilen % değişim.....	51

SEMBOL LİSTESİ

AAH	: Atipik adenomatöz hiperplazi
BPH	: Benign prostat hiperplazisi
CGH	: Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
DMSO	: Dimetil sülfoksit
ECM	: Ekstraselüler matriks
EGF	: Epidermal büyüme faktörü
FISH	: Floresan <i>in situ</i> hibridizasyon
GABA	: Gamma-aminobutirik asit
HGPIN	: İleri evre prostatik intraepitelyal neoplazi
³H-TdR	: Tritiyumlu timidin
IGF I	: İnsülin büyüme faktörü I
IGF II	: İnsülin büyüme faktörü II
LI	: İşaretlenme indeksi
LTG	: Lamotrijin
MHD	: Monohidroksi derivatif
MoI	: Motilite indeksi
MTT	: 3 - (4,5-Dimetiltiazol -2yl) – 2,5 – Difenil tetrazolyum bromid
OXC	: Okskarbazepin
PIN	: Prostatik intraepitelyal neoplazi
PSA	: Prostat spesifik antijen
PTEN	: Fosfataz ve tensin homolog
RPMI-1640	: Roswell Park Memorial Institute 1640 medyum
SH	: Standart hata
TGF- α	: Transforme edici büyüme faktörü α
TRUS	: Transrektal ultrasonografi
TTX	: Tetrodotoksin
TTX-S	: Tetrodotoksine hassas
TTX-R	: Tetrodotoksine dirençli
VGSC	: Voltaj kapılı sodyum kanalı

ÖZET

ANTİEPİLEPTİKLERİN (LAMOTRİJİN VE OKSKARBAZEPİN) SIÇAN PROSTAT KANSER HÜCRELERİ (MAT-LYLU) ÜZERİNE ETKİLERİ: PROLİFERASYON VE MİGRASYON

Prostat kanseri, ilerleyen yaşla birlikte erkeklerde görülme oranı hızla artış gösteren oldukça yaygın bir kanser türüdür. Prostat kanserinin gelişimi ve ilerlemesinde voltaj kapılı sodyum kanalları (VGSC)'nın, oldukça önemli rollere sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. VGSC ekspresyonunun, metastatik süreçte hızlandırıcı bir faktör olarak rol aldığını, hastalığın teşhis ve tedavisinde bir markır olma potansiyeli taşıdığını gösteren çalışmalar, VGSC'lerin prostat kanserinde yeni terapötik bir hedef olduğunu göstermektedir. Bu konuda yapılan araştırmalardan elde edilen bulgular kansere yönelik yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi, VGSC'lere spesifik ajanların saptanması ve etki profillerinin aydınlatılması açısından önem taşımaktadır.

Epilepsi, tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize edilen ve spesifik tedavi gerektiren kronik bir hastalıktır. Hastalığın tedavisinde kullanılan antiepileptik ilaçlar çeşitli etki mekanizmalarına sahiptir. Çalışmada kullandığımız yeni nesil antiepileptiklerden lamotrijin (LTG) ve okskarbazepin (OXC) Na⁺ kanallarını bloke ederek epileptik nöbetlerin baskılanmasını sağlamaktadırlar.

Çalışmada, LTG ve OXC'nin, Dunning sıçan prostat tümör modeli yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin toksisite, proliferasyon ve işaretlenme indeksi gibi kinetik parametreleri üzerindeki etkilerini ortaya koymak ve ajanların, hücrelerin lateral hareketi üzerindeki etki profillerini, spesifik bir VGSC blokeri olan tetrodotoksin (TTX) ile karşılaştırmalı olarak araştırmak amaçlanmıştır.

Bu amaçla, Mat-LyLu hücrelerine 75 µM LTG, 0,1 µM OXC ve 600 nM ile 1 µM TTX 24 ve 48 saat süreyle uygulanmış, hücre kinetiklerinin yanı sıra hücrelerin lateral hareketi de incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre: LTG ve OXC'nin, Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu üzerinde anlamlı bir etki oluşturmadığı (p>0,05) ancak, DNA sentezini stimüle ettiği tespit edilmiştir. LTG ve OXC'nin Mat-LyLu hücrelerinin VGSC'lerini baskılamada spesifik bir sodyum kanal blokeri olan TTX gibi belirgin bir inhibisyon sergilemedikleri saptanmıştır.

SUMMARY

EFFECTS OF ANTIEPILEPTICS (LAMOTRIGINE AND OXCARBAZEPINE) ON MAT-LYLU RAT PROSTATE CANCER CELL LINE: PROLIFERATION AND MIGRATION

Prostate cancer, which has rapidly rate of increase by advancing age among men, is a very common type of cancer. A lot of studies display that, voltage gated sodium channels (VGSC) have very important roles at prostate cancer's development and progression. Also it was showed that, VGSC expression plays a role as an accelerator factor and some of the studies point out that VGSCs may have a potential for the diagnosis and treatment of this disease as a therapeutic marker. Evidences from cancer studies are very important for enhancing new therapy methods, establishing VGSC specific agents and for explaining their efficacy profiles.

Epilepsy is a chronic disease that is characterized by repetitive seizures and needed to be cured particularly. The antiepileptic drugs used for the treatment have different efficacy mechanisms. The new antiepileptics, lamotrigine (LTG) and oxcarbazepine (OXC) we used for the study, provide the suppression of epileptic seizures and show their effects via Na^+ channel blockade.

The aim of this study is to determine the effects of LTG and OXC onto Dunning rat prostate tumour model, highly metastatic Mat-LyLu cells' kinetic parameters like toxicity, proliferation and labelling index. Also it was aimed to show the effects of these agents on lateral movement of cells by comparing with the other VGSC specific blocker tetrodotoxin (TTX).

For this purpose 75 μM LTG, 0,1 μM OXC, 600 nM and 1 μM TTX were applied onto Mat-LyLu cell line for 24 and 48 hours, furthermore lateral movement of the cells were studied together with cell kinetics. According to achieved results, 75 μM LTG and 0,1 μM OXC did not produce a statistical effect ($p>0,05$) on proliferation and migration of cells, however they stimulated DNA synthesis. Also it was determined that, LTG and OXC did not show an obvious inhibition such as high specific blocker TTX.

1.GİRİŞ

Prostat kanseri ilerleyen yaşla birlikte erkeklerde görülme oranı hızla artış gösteren oldukça yaygın bir kanser türüdür (Patel ve Klein, 2009). Prostat kanserinin ortaya çıkmasına ve gelişmesine sebep olan faktörler çok iyi bilinmese de; yaş faktörü, etnik köken gibi birtakım nedenlerin yanı sıra, birinci dereceden yakınlarında prostat kanseri teşhis edilmiş erkeklerde söz konusu hastalığın görülme riskinin 2-3 kat arttığı bilinmektedir (Johns ve Houlston, 2003; Aus ve diğ., 2005). Bir erkekte 0-39 yaş arasında prostat kanseri gelişme olasılığı %0,01 iken; 40-59 yaş arasında %2,58; 60-79 yaş arasında %14,7 ve yaşam boyu erkek bir bireyde klinik öneme sahip prostat kanseri gelişme olasılığı %17,8 gibi oldukça yüksek oranlara ulaşmaktadır (Jemal ve diğ., 2005).

Prostat kanserinin görülme sıklığı ülkeler arasında değişmekle birlikte, erkeklerde çoğunlukla teşhis edilen ikinci kanser türüdür ve her yıl 914.000 yeni olguya tanı konmaktadır (Jemal ve diğ., 2010). Türkiye'deki erkeklerde prostat kanseri, en sık teşhis edilen kanser türleri arasında akciğer ve mide kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Bu hastalığın görülme sıklığı yürütülen araştırmalar sonucunda yüz binde 5,97 olarak tespit edilmiştir (Aydın, 2007).

Lokal ve sistemik tedavilerle düşük oranlarda iyileşmeler gözlenirse de, çoğunlukla ilerleyen evrelerde gelişen metastazlar nedeniyle kaçınılmaz olarak ölüm gerçekleşmektedir (Izawa ve Dinney, 2001). Metastaz; kanser hücrelerinin primer tümörden ayrılmasını, aktif bir şekilde migrasyonunu, tümör hücrelerinin kan damarlarına intravazasyon ve ekstrasvazasyonunu, uzaktaki bir dokuya yerleşip çoğalmalarını kapsayan çok basamaklı bir süreçtir (Madeja ve diğ., 2005).

Hücre zarında bulunan ve açılıp kapanarak partiküler iyonların zardan geçişini sağlayan iyon kanalları, hücrenin aktivitesinde çok önemli bir yere sahip transmembran proteinlerdir (Denac ve diğ., 2000). Voltaj kapılı iyon kanallarından Na^+ , K^+ ve Ca^{+2} kanallarını içine

alan, belirli bir zar potansiyelinde özgün oldukları iyonlara karşı geçirgenliği bulunan bu kanallar yapısal olarak benzerlikler göstermektedir (Terlau ve Stühmer, 1998). Voltaj kapılı sodyum kanalları (VGSC), miyosit ve endokrin hücreleri gibi elektriksel olarak uyarılabilen hücrelerde ve nöronlarda aksiyon potansiyelinin oluşumunu sağlamaktadırlar (Yu ve Catterall, 2003). Yapılan çalışmalar; prostat, kolon ve glioma gibi kanser türlerinin proliferasyonunda ve metastatik gelişiminde voltaj kapılı iyon kanallarının rol oynadığını ortaya koymuştur (Fiske ve diğ., 2006).

Sıçan ve insan prostat kanser hücrelerinde çeşitli tipte VGSC'ler bulunmuştur (Laniado ve diğ., 1997). Prostat kanseri araştırmalarında yaygın olarak kullanılan Dunning sıçan prostat tümör modeli, başlangıçta karsinogenezin hormonal yönlerinin araştırılmasında, daha sonra ise, kanser araştırmalarının metastaz biyolojisi gibi farklı alanlarında deneysel model olarak kullanılmaktadır (Tennant ve diğ., 2000). Dunning sıçan prostat kanser hücreleri olan Mat-LyLu hücrelerinde bulunan VGSC'lerin güçlü bir nörotoksin olan tetrodotoksine (TTX) duyarlı olduğu gösterilmiştir (Grimes ve Djamgoz, 1998). TTX'in dikkat çekici fonksiyonlarından biri, VGSC'nin, membranın dış yüzündeki reseptör bölgesine kısa bir sürede sıkıca bağlanarak kanaldaki sodyum akımını etkin bir şekilde bloke etmesidir (Cestele ve Catterall, 2000). İnsan ve sıçan prostat kanser hücreleri ile yürütülen *in vitro* çalışmalarda, bu hücrelerde VGSC ekspresyonunun arttığı ve VGSC ekspresyonundaki bu artışın invazyon (Grimes ve diğ., 1995; Bennet ve diğ., 2004), morfolojik genişleme (Fraser ve diğ., 1999), galvanotaksis (Djamgoz ve diğ., 2001), hareket (Fraser ve diğ., 2003), salgılayıcı membran aktivitesi (Mycielska ve diğ., 2003), gen ekspresyonu (Mycielska ve diğ., 2005) ve adezyon (Palmer ve diğ., 2008) gibi metastaz ile ilişkili hücresel aktiviteleri kuvvetlendirdiği ve VGSC'leri spesifik olarak bloke eden TTX'in bu hücresel metastatik davranışları baskıladığı *in vitro* olarak gösterilmiştir. Dunning sıçan prostat kanser modeli ile yapılan *in vivo* araştırmalarla, *in vitro* bulguları destekleyecek şekilde, VGSC'lerin prostat kanser hücrelerinin metastatik davranışlarında rolü olduğu ve bu kanalların bloklanmasının metastazı baskıladığı saptanmıştır (Yıldırım, 2007; Altun ve Djamgoz, 2008).

Halk arasında sara olarak da bilinen epilepsi, tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize edilen ve bu nöbetlerin spesifik tedaviyi gerektirdiği kronik bir hastalıktır. Epileptik bir nöbet, beyindeki anormal elektrik deşarjının neden olduğu bir ataktır ve duyu-motor

fonksiyonlarında, davranış, hafıza veya bilinçte ortaya çıkan ani değişikliklerle kendini gösterir (Özateş ve diğ., 2003).

Vigabatrin, lamotrijin, topiramat, tiagabin, gabapentin, okskarbazepin, levetirasetam ve zonisamid gibi etken maddeler, epilepsi tedavisinde kullanılmakta olan yeni nesil antiepileptik ilaçların bileşiminde yer almaktadır (Sendrowski ve Sobaniec, 2005). Genelde birçok yeni antiepileptik ilaç, hem farmakokinetik özellikleri hem de diğer antiepileptiklerle etkileşime girmediklerinden, standart ilaçlara göre daha iyi tolere edilmektedirler (Karagöz, 2002).

Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları, inhibitör GABAerjik (gamma-aminobutirik asit) transmisyonu arttırmak, uyarıcı glutamaterjik nörotransmisyonu azaltmak, voltaj kapılı sodyum ve kalsiyum kanallarını bloke etmek ve hücre içi sinyal yollarını etkilemek şeklinde sınıflandırılmaktadır (Johannessen, 2008). Lamotrijin'in (LTG) voltaj kapılı sodyum kanallarını bloke edici ve potasyum kanallarını düzenleyici etkisi bulunmaktadır (Jefferson, 2005). Yeni nesil antiepileptiklerden bir diğeri olan okskarbazepin'in (OXC) de sodyum kanalındaki iyon iletim düzeyinde oldukça belirgin bir azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Huang ve diğ., 2008).

Çalışmamızda; etkisini Na^+ kanallarını bloke ederek gösteren, yeni nesil antiepileptik ajanlardan LTG ve OXC'nin, Dunning sıçan prostat tümör modeline ait yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin toksisite, proliferasyon ve işaretlenme indeksi gibi hücre kinetikleri üzerindeki etkilerini ortaya koymak ve kullanılan ajanların, hücrelerin lateral hareketi dolayısıyla da VGSC'leri üzerindeki etkilerinin, spesik bir VGSC blokeri olan TTX ile karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

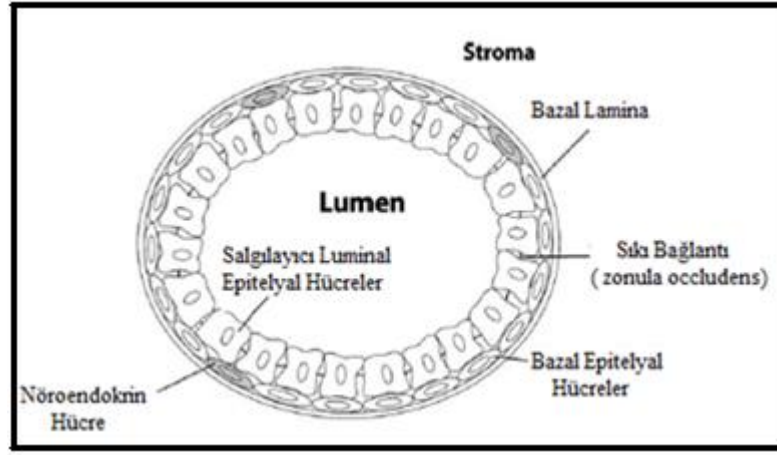
2.1. PROSTAT BEZİ

Erkek üreme sisteminin yardımcı bezlerinden biri olan prostat, fibromuskuler ve glandüler yapıya sahip, idrar kesesinin hemen altında rektumun önünde yerleşmiş bir bezdir. Prostat; erişkin bir erkekte ortalama olarak 18-20 gram ağırlığında, 30-50 adet tubuloalveolar bez içerir (Tanagho, 2004).

Prostatik üretra epiteli, ürogenital sinüs endoderminden köken alır. Embriyonel gelişimin üçüncü ayından itibaren prolifer olmaya başlayarak çevresindeki mezenşimal doku içine penetre olan tomurcuklanmalar gösterir (Başaklar, 1993). Prostatın glandüler bez epiteli bu endodermal hücre tomurcuklarından gelişirken, epitel hücreleriyle ilişkili mezenşimden ise, organın stroması ve düz kasları meydana gelmektedir (Başaklar, 1993; Polat, 2002). Neonatal dönemde çapı 1 cm'den az olan prostat, puberte dönemine kadar gelişerek 2 cm'lik bir boyuta ulaşır. Puberte döneminden sonra prostatın olgunlaşması hızlanır ve 20 yaşına kadar olgunlaşma evresini sürdürür (McNeal, 1997).

Prostat epiteli içerisinde; morfolojik özellikleri, fonksiyonel durumları ve karsinogenezle ilişkileri açısından en az üç farklı hücre tipi ayırt edilebilir (Şekil 2.1.1) (Montano ve Djamgoz, 2004). En yaygın olarak bulunan hücre tipleri, salgı yapan luminal hücrelerdir. Bu hücre tipleri androjen bağımlıdır ve prostatik salgı maddelerini üretir. Moleküler seviyede luminal hücreler; androjen reseptör sentezi, sitokeratin 8 ve 18, hücre yüzey belirteci CD57 ile tanımlanabilir. İkinci önemli epitelyal hücre tipi, bazal hücrelerdir. Bu hücreler; luminal hücreler ile bazal membran arasında bulunur ve prostat dokusunda luminal hücreleri çevreleyen bir katman oluştururlar. Bazal hücreler; sitokeratin 5 ve 14, CD44 ve düşük seviyede androjen salgılar ancak prostatik salgı proteinlerini üretmezler (Brawer ve diğ., 1985; Nagle ve diğ., 1987; Verhagen ve diğ., 1988; Sherwood ve diğ., 1990; Liu ve diğ., 1997; Bui ve diğ., 1998). Bazal hücrelerin aynı zamanda potansiyel kök

hücreler olabilecekleri de düşünülmekte olup bu hücrelerin, muhtemel kök hücre profiline uygun olarak, DNA hasarına karşı koruyucu moleküller sentezledikleri belirtilmekte ve anti-apoptotik Bcl2 proteini örnek olarak verilmektedir (Bui ve diğ., 1998; De Marzo ve diğ., 1998). Üçüncü prostatik epitelyal hücre tipi ise, embriyonik kökeni tam olarak bilinmeyen nöroendokrin hücrelerdir. Bu hücrelerin, luminal hücrelerin büyümesini sağlayan parakrin sinyaller ürettikleri düşünülmektedir (Di Sant'agnese, 1998; Abrahamsson, 1999). Nöroendokrin hücreler androjen bağımsız hücrelerdir. Bazal katmanda dağınık olarak bulunan bu hücreler kromogranin A, serotonin ve çeşitli nöropeptitleri sentezlerler (Abete-Shen ve diğ., 2000).



Şekil 2.1.1. İnsan prostat bezini oluşturan hücre tiplerinin şematik olarak gösterilmesi.

Prostat dokusunda tanımlanan farklı hücre tiplerinin köken ilişkilerinin bilinmesi, prostat kanserinin oluşum mekanizmasının aydınlatılması bakımından önem taşımaktadır. Prostat kanser hücreleri genellikle bazal hücrelere spesifik moleküller sentezlemelerine karşın, prostat kanserinde bazal hücre katmanının kaybolduğu görülmektedir (Bostwick, 1996). Ayrıca prostat spesifik antijen sadece luminal hücreler tarafından salgılandığından, kanser hücreleri en azından kısmen luminal fenotipe sahiptir. Bu durum, neoplastik bir transformasyon esnasında luminal hücrelerin muhtemelen bazal hücre fenotipine benzeyen daha az farklılaşmış bir hücre tipine dönüştüğü şeklinde açıklanmaktadır (Abete-Shen ve diğ., 2000).

Prostat bezi; en dışta kollajenöz doku ve sirküler düz kas liflerinden oluşan, ince bir fibröz kapsül ile çevrelenmiştir. Bu kapsülün altında konnektif ve elastik doku, düz kas lifleri ve

Transizyonel zon, prostatın glandüler yapısının %5-10'unu oluşturmaktadır. Benign prostat hiperplazisi (BPH) olarak adlandırılan prostat büyümesi, sıklıkla bu bölgeden kaynaklanmakla birlikte, prostat adenokarsinomasının %20'si de yine aynı bölgeden meydana gelmektedir. Santral zon, ejakülatör kanalları koni şeklinde sararak mesane tabanına doğru yayılmakta ve prostatın salgılama fonksiyonuna sahip olan bu bölümü yaklaşık %25'lik kısmını oluşturmaktadır. Prostatın posterior ve lateral bölümlerini kapsamakta olan periferik zon ise, prostatın glandüler yapısının %70'ini içermektedir. Prostat kanserlerinin %70'i periferik zondan kaynaklanmakta olup, bu bölge sıklıkla prostat iltihabı olarak bilinen kronik prostatitten de etkilenmektedir. Prostatın 1/3'ünden fazlasını anterior fibromusküler stroma oluşturmaktadır. Bu zon normalde idrar kesesinden çizgili sfinktere kadar uzanmaktadır.

Prostat bezi, androjen metabolizmasında da önemli bir rol üstlenmiştir. Plazmadaki serbest testosteron, prostatik hücrelere difüzyon yolu ile girdikten sonra prostatik enzimler aracılığıyla diğer steroidlere metabolize olur. Testosteronun önemli bir kısmı 5 alfa redüktaz enzimi aracılığıyla en önemli prostatik androjen olan dihidrotestosterona geri dönüşümsüz olarak çevrilir. Dihidrotestosteron, prostatın embriyolojik gelişiminde önemli bir etkiye sahiptir ve erkek dış genital organlarının farklılaşmasını sağlar.

Sağlıklı bir bireyde prostat hacmi optimal seviyeye geldiğinde, androjen ve doku homeostazının sağladığı prostatik hücre proliferasyonu ile apoptotik hücre ölümü denge halindedir. Bu dengenin bozulması hem prostat hücre sayısındaki artışı, hem de prostat dokusunda dolayısıyla da, hacmindeki artışı meydana getirir (Kyprianou ve diğ., 1996). Organizmanın yaşına bağlı olarak epitelyal zonda dihidrotestosteron seviyesinin artması prostat dokusundaki östrojen/androjen oranının artışına neden olmaktadır. Meydana gelen bu hormonal dengesizlik ise, benign prostat hiperplazisini (BPH) ortaya çıkarabilmektedir (Bonkhoff ve Remberger, 1998).

2.2. PROSTAT KANSERİ

Dünya çapında oldukça yaygın bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkan prostat kanseri, 65 yaşın üzerinde her dokuz erkekten birinde vaka haline gelebilme olasılığının bulunduğu ve en sık tanı konulan kanser türlerinden biridir (Penson ve Albertsen, 2002). Prostat

bezinin genelde normal olmayan ve kontrol dışı bir şekilde büyümesiyle karakterize olan bu hastalık, yaşı ilerleyen erkekler arasında morbidite ve mortalitenin ana nedeni olarak uzun zamandan beri süregelmektedir (Foster ve diğ., 1999; Jemal ve diğ., 2006).

Prostat kanserinin görülme sıklığı ülkeler arasında değişmekle birlikte, erkeklerde çoğunlukla teşhis edilen ikinci kanser türüdür ve her yıl 914.000 yeni olguya tanı konmaktadır (Jemal ve diğ., 2010). Ülkemizde ise, prostat kanserinin görülme sıklığını yansıtan yeterli sayıda istatistiksel veri bulunmamaktadır. Türkiye'deki erkeklerde prostat kanseri, en sık teşhis edilen kanser türleri arasında akciğer ve mide kanserinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Bu hastalığın görülme sıklığı yürütülen araştırmalar sonucunda yüz binde 5,97 olarak tespit edilmiştir (Aydın, 2007).

Prostat kanseri için yaş, genetik, etnik köken, diyet ve androjenler gibi çok sayıda risk faktörü mevcuttur. Prostat kanseri, 50 yaşın altındaki erkeklerde oldukça nadir görülmesine rağmen, görülme sıklığı yaşla birlikte artış göstermekte ve bu oran 50 yaşın üzerindeki erkeklerde %30'un üzerinde iken, 80 yaşındaki erkeklerde %80'lere ulaşmaktadır (Foster ve diğ., 1999; Parkin ve diğ., 1999). Bir erkekte 0-39 yaş arasında prostat kanseri gelişme olasılığı %0,01 iken, 40-59 yaş arasında %2,58, 60-79 yaş arasında %14,7 ve yaşam boyu bir erkekte klinik öneme sahip prostat kanseri gelişme olasılığı %17,8 gibi yüksek oranlardadır (Jemal ve diğ., 2005).

Etnik gruplar ve ülkeler arasında oldukça farklı oranlar sergileyen prostat kanseri insidansı; Asya'da özellikle Çin ve Japonya'da düşük iken, Kuzey Amerika ve İskandinav ülkelerinde artmaktadır (Weber, 2007). Diğer etnik gruplara kıyasla, hastalığın daha erken başlaması, agresifliğine bağlı olarak hızlı ilerleme göstermesinde Afrikalı-Amerikan erkekler, daha yüksek insidansa sahiptirler (Merrill ve Morris, 2002). Afrikalı-Amerikan erkekler prostat kanserine yakalanma bakımından, beyaz ırka mensup bireylerden %50 daha yüksek insidans ve ortalama iki kat daha fazla mortalite oranı göstermektedirler (Sarma ve Schottenfeld, 2002).

Bu hastalığın patogenezinde diyet gibi faktörlerin de rol oynadığı göz önüne alındığında, Japonya'da yaşayan Japon halkında prostat kanserinin görülme sıklığı düşük olmakla beraber, Kuzey Amerika'ya göç eden Japonlar arasında prostat kanseri insidansı gün

geçtikçe artmaktadır (Shimizu ve diğ., 1991). Soya proteini bakımından zengin besinlerin, hayvansal yağ içerikli besinlere kıyasla daha fazla tercih edildiği Asya kıtasının doğusunda hastalığın insidansı oldukça düşük oranlarda seyretmektedir (Shimizu ve diğ., 1991; Yu ve diğ., 1991). Bazı diyet öğeleri kanserin tetiklenmesine neden olurken, sayısı gittikçe artan birtakım veriler de bazı esansiyel ve esansiyel olmayan besinlerin, tümör gelişimini baskılayabildiğini ortaya koymaktadır (Denis ve diğ., 1999; Schorah, 1999). Likopen türü flavonoidler, selenyum, kalsiyum, vitamin E, soya, yeşil çay ve aralarında eikosapentaenoik asit ve dokosaheksaenoik asit'in de bulunduğu omega-3 çoklu-doymamış yağ asitlerini içeren diyetlerin kanser riskini azaltabileceği saptanmıştır (Sonn ve diğ., 2005; Haddad ve diğ., 2006; Berquin ve diğ., 2007; Cheung ve diğ., 2008; Itsiopoulos ve diğ., 2009). Birçok çalışma, prostat kanser riskiyle, diyetel yağlardan özellikle doymuş yağlar arasında güçlü bir pozitif korelasyonun bulunduğunu göstermiştir (Kolonel ve diğ., 1999).

Erken yaşta ortaya çıkan prostat kanseri, ailesel yatkınlıkla ilişkilendirilmekte ve bu hastalığın görülmesindeki etkenlerin %10'unun kalıtsal olduğu bilinmektedir. Kalıtsal prostat kanserinde birtakım genlerin (HPC1, PCAP, HPCX, CAPB, HPC20, HPC2/ELAC2 VE 16q23 gibi) rol aldığı belirtilmektedir (Nwosu ve diğ., 2001; Carpten ve diğ., 2002; Rokman ve diğ., 2002).

Steroid hormon reseptör sinyal yolları, prostat karsinogenezinin her evresinde önemli rol oynamaktadır. Androjenler, fizyolojik olarak prostatın büyümesi, gelişmesi ve fonksiyonu için gerekli hormonlardır. Erkeklerde androjen/östrojen oranının yaşa bağlı olarak azalmasının, prostat kanserinin ortaya çıkışında önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir (Abete-Shen ve diğ., 2002).

Prostat kanserinin kliniksel tedavisinde, hastalığın teşhisinin konduğu zamanki evresi ve differensiyasyon derecesi gibi kriterler, izlenilecek yol ve uygulanacak yöntemler açısından oldukça önem taşımaktadır. Prostat kanserinin erken döneminde herhangi bir belirti gözlenmezken, hastalığın ilerleyen evrelerinde prostat bezinin büyümesine bağlı olarak idrar yapmada zorluk, idrarda veya semende kan görülmesi, ayrıca ağrı ve erektil fonksiyon kaybı gibi belirtiler teşhise yardımcı olmaktadır. Parmakla rektal inceleme, prostat spesifik antijen (PSA), transrektal ultrasonografi (TRUS) ve biyopsi yöntemleri

prostat kanserinde tanı koymak amacıyla başvuru alan tetkiklerdir. Bunlardan TRUS, PSA ve parmakla rektal inceleme en çok tercih edilenlerdir. Günümüzde prostat kanserinin tedavisinde cerrahi, radyoterapi ve hormon tedavisi metodları kullanılmaktadır. Hastalığın bez ile sınırlı olduğu lokalize dönemde; cerrahi (prostatektomi, termal enerji) ve brakiterapiyi içeren radyoterapi, metodları kullanılmaktadır. Metastazın bulunduğu durumlarda ise, kullanılan yöntem hormonal tedavidir (Erözenci, 2003). Bu yaklaşımlar, tedavide farklı etkinlik derecelerine sahip olsa da, en az %50'sinde hastalık ilerlemekte ve vücudun başka bölgelerine yayılmaya başlayarak metastatik evreye geçmektedir (Shelley ve diğ., 2007). Prostat kanserinin metastatik odakları, akciğer, kemikler ve lenf nodlarıdır. Metastazın ortaya çıktığı durumlarda tercih edilen hormonal tedavi, androjen hormonlarının sentezinin ya da reseptörlerinin inhibe edilmesi esasına dayanır. Bu klasik androjen süpresyon terapisi, başlangıçta hastalığı kontrol altına almaya yardımcı olmakla birlikte, yaklaşık iki yıldan sonra hormona karşı direnç gelişerek tedaviye yanıt vermemeye başlamakta ve hastalığın tedavisi güçleşmektedir (Hellerstedt ve Pienta, 2002; Kageyama ve diğ., 2007).

Prostat kanserinin ortaya çıkışından ve progresyonundan sorumlu mekanizmalar tam olarak ortaya çıkarılamamıştır, ancak karsinogenez gelişiminde sinyal iletim yolları, anjiyogenez, adezyon, proliferasyon, hücre ölümü, farklılaşma ve DNA tamiri gibi çok önemli hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde etkili olan genlerde birtakım değişikliklerin ve düzensizliklerin meydana gelmesi söz konusudur. Prostat kanseri histopatolojik çalışmaları sonucunda, hastalığın primer öncüsü olarak öngörülen spesifik bir lezyon tipi tanımlanmıştır. Prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) olarak adlandırılan bu lezyon tipi, atipik hücresel özellikler ve nükleer polimorfizm ile belirgindir. İleri evre prostatik intraepitelyal neoplazinin (HGPN), erken invaziv karsinomanın hemen önceki aşamasını temsil ettiği düşünülmektedir. PIN lezyonları, prostat epitelinde görülen BPH ve atipik adenomatöz hiperplazi (AAH) gibi diğer bazı histopatolojik anormallerden yapısal ve sitolojik olarak ayırt edilebilmektedir. BPH ve AAH, PIN'in aksine, prostat kanserinin öncü evreleri olarak düşünülmemektedir (Bostwick ve Chang, 1999).

Prostat kanserinde sıklıkla görülen moleküler değişikliklerden biri, 8. kromozomun spesifik bölgelerinde gerçekleşen delesyonlardır. Bu tür düzensizlikler; floresan *in situ* hibridizasyon (FISH), karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) ve allelik dengesizlik

analizi teknikleri ile prostat tümörlerinin %80'inde belirlenmiştir (Chang ve diğ., 1994; Wistuba ve diğ., 1999). PTEN (fosfataz ve tensin homolog) protein kaybının, insan prostat karsinogenezinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda yapılan bir çalışmada pek çok prostat kanser hücre hattında ve ksenografta tümör baskılayıcı genlerden olan PTEN kaybı olduğu gösterilmiştir (Vliestra ve diğ., 1998).

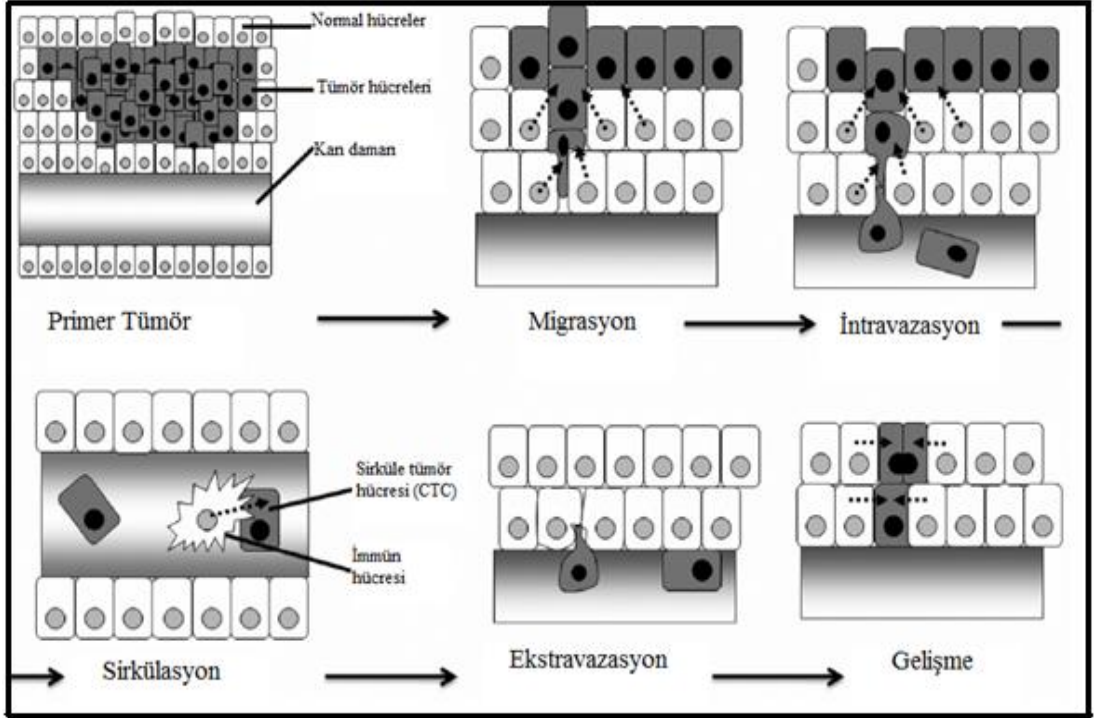
Prostatik karsinogenezin erken evrelerinde kromozom 7 ve kromozom 10'un da rol oynayabileceği ve kromozom 13, 16, 17 ve 18'in de primer tümörle ilişkili olabileceği yönünde kanıtlar bulunduğu belirtilmektedir. İleri evre ve tekrarlayan prostat kanserlerinin %20-%40'ında kromozom 5'te mutasyon meydana geldiği tespit edilmiştir (Kallioniemi ve Visakorpi, 1996; Bonkhoff ve Remberger, 1998; Weber, 2007).

Diğer birçok tümörde olduğu gibi, prostat kanserinde de hücre siklusunun kontrolüne ilişkin genlerde meydana gelen değişikliklerin hastalığın ilerlemesinde belirgin rol oynadığı öngörülmektedir. Normal şartlarda, prostat epitelinde oldukça düşük oranda gerçekleşen hücre çoğalması, yine düşük oranda seyreden apoptoz ile dengede tutulmaktadır (Berges ve diğ., 1995). Diğer taraftan, PIN ve erken invaziv karsinomlarda hücre çoğalma oranında 7-10 kat artış olduğu, ileri evre ve/veya metastatik prostat kanserlerinde de apoptoz oranında yaklaşık %60 azalma olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, organa sınırlı olan hastalığın ilerlemesinde hücre siklus kontrolündeki kaybın önemli rol oynadığı, apoptozda meydana gelen düzensizliklerin ise, ileri evre prostat kanserinde daha önemli olduğu düşünülmektedir (Abete-Shen ve diğ., 2000).

2.3. PROSTAT KANSERİNDE METASTAZ, MİGRASYON VE İYON KANALLARI

Metastaz; malignansi gelişiminin son basamağını temsil ederken, kanser hastalarındaki mortalitenin de ana sebebi olmaya devam etmektedir. Bir tümör hücresinin primer tümörden ayrılarak, dolaşım sistemi aracılığıyla, farklı alanlara göç etmesi ve buralarda sekonder tümörleri oluşturmasıyla metastaz meydana gelmektedir. Kanser hücrelerinin primer tümörden ayrılarak ekstraselüler matrikse (ECM) yayılmasını, aktif şekilde migrasyonunu, tümör hücrelerinin kan ve/veya lenf sistemlerine girmesini (intravazasyon)

ve damarların dışına çıkıp, çevre dokulara penetre olmalarını (ekstravazasyon) ve sonuçta uzaktaki bir dokuya yerleşip çoğalmalarını kapsayan metastaz, çok basamaklı bir süreçtir (Şekil 2.3.1) (Madeja ve diğ., 2005).



Şekil 2.3.1. Metastatik süreç

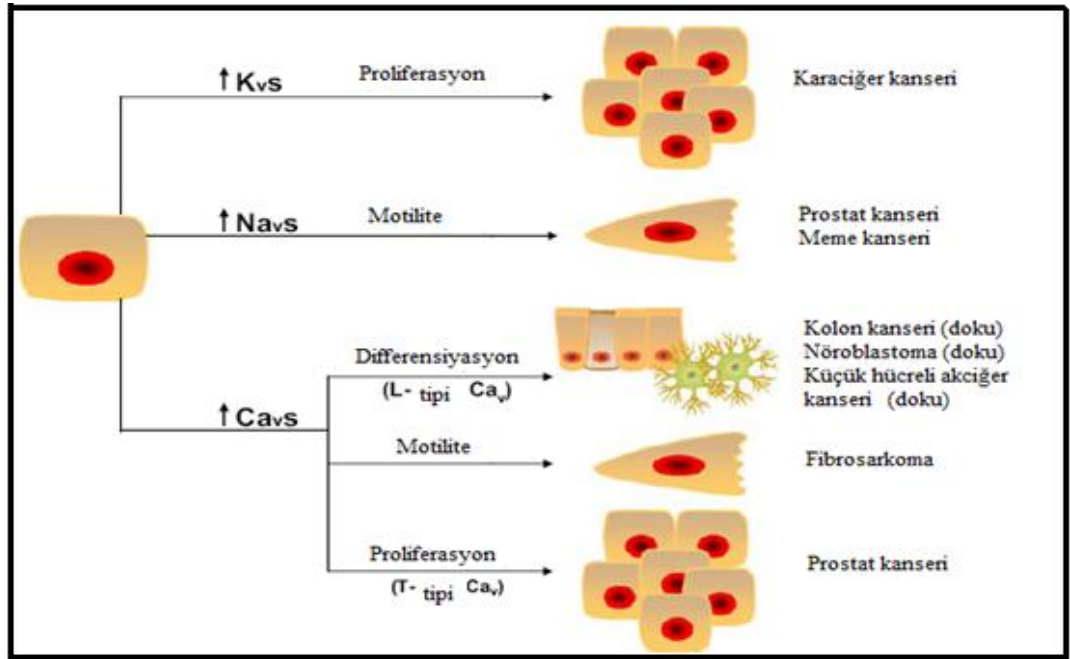
Tümör hücresinin lateral hareketi (motilite/migrasyon), metastatik yayılımda önemli ve kritik bir aşamadır. Bir hücrenin hareketlenmesi, ECM ve hücre iskeleti arasındaki etkileşime bağlı aktif şekilde ilerleyen karmaşık bir süreçtir. Dunning R3327 sıçan prostat adenokarsinoma hücre hatlarıyla (AT1, AT2, AT3, Mat-Lu, Mat-LyLu) yürütülmüş birtakım çalışmalar, tümör hücresinin motilitesi ile metastaz arasında güçlü bir korelasyon olduğunu gösterilmesine yardımcı olmuştur. Prostat tümör hücreleri; ECM bileşenlerinin yanı sıra stromal hücreler, düz kas hücreleri, endotel hücreler ile bazal, sekretuar ve nöroendokrin olarak özelleşmiş epitel hücrelerinin bulunduğu karmaşık bir çevreye sahiptir. Bu hücre tipleri prostat kansinomasının proliferasyon, differensiyasyon, motilite gibi hücresel davranışlarını düzenleyen birtakım faktörler salgılayabilmektedir (Banyard ve Zetter, 1999). Prostat kanserinde büyüme faktörlerinin sentezinde ve salgılanmasında bir artış ya da bu faktörlere ait reseptörlerde meydana gelebilecek bir değişiklik hücrenin

motilitesini etkileyebilecek potansiyele sahiptir. Prostat kanseri hücrelerinden DU 145 ile yürütülen bir çalışmada, epidermal büyüme faktörü (EGF) ve transforme edici büyüme faktörü α (TGF- α)'nın artmış olduğu, buna paralel olarak hücrelerin motilitesinin de arttığı gözlenmiştir (Ching ve diğ., 1993). Prostat karsinoma hücresinin metastatik odaklarından birini oluşturan kemik dokusunun sahip olduğu insülin büyüme faktörleri (IGF I ve IGF II) tümör hücrelerinin hareketini pozitif yönde etkileyebilmektedir. Bir başka çalışmada prostat tümörü çevresinde yer alan hücre tiplerinden nöroendokrin hücrelerin, bombesin ve gastrin salıcı peptid üreterek, PC-3 insan prostat karsinoma hücrelerinde motiliteyi arttırdıkları tespit edilmiştir (Aprikian ve diğ., 1997). Büyüme faktörleri ve sitokin düzenleyicilerin yanı sıra çevreleyici matriks de hücrelerin hareketlenmesine etki edebilmektedir. Proteazların salgılanması, ECM'nin degradasyonuna ve hücrelerin primer yerde dokuya invazyonuna ya da sekonder metastaz oluşturmalarına olanak sağlayabilmektedir.

Metastatik süreçte hücre adezyon molekülleri (E-kaderin, integrin vb.), ECM yıkıcı enzimleri (proteazlar) ve bunların inhibitörleri, hücre çoğalmasını ve migrasyonunu uyaran sitokinler, hücre iskeleti elemanları ve iyon kanal aktivitesi gibi çok sayıda faktör genellikle kombinasyonlar şeklinde rol almaktadır (Woodhouse ve diğ., 1997; Fraser ve diğ., 2003).

Hücrelerin plazma zarında yer alan, açılıp kapanarak partiküler iyonların zardan geçişini sağlayan iyon kanalları, hücrenin aktivitesinde çok önemli bir yere sahip transmembran proteinlerdir (Foster ve diğ., 1999; Denac ve diğ., 2000). İyon kanalları, birçok hücresel davranışın düzenlenmesinin yanı sıra kanser gelişimi ve kanserin metastatik davranışı ile bağlantılı olan hücrelerin motilitesi ve invazyonunda rol oynamaktadır. Ancak iyon kanallarının, kanser gelişiminin hangi aşamasında sürece dahil olduğu kesin olarak bilinmemektedir (Kunzelmann, 2005). Plazma membranında bulunan kapı kontrollü kanallardan olan voltaj kapılı iyon kanalları aksiyon potansiyelinin oluşumunda ve iletiminde rol alırlar (Baslo ve diğ., 2002). Voltaj kapılı iyon kanalları Na^+ , K^+ ve Ca^{+2} kanallarını içine alan, birbirleriyle ilişkili büyük bir protein ailesidir. Bu kanalların aralarında yapısal olarak önemli derecede benzerlikler söz konusudur ve belli bir zar potansiyelinde spesifik oldukları iyonun zardan geçişine izin verirler (Terlau ve Stühmer, 1998).

Hücrelerin normal büyüme ve farklılaşma sürecinde, bir iyon kanalının aktivitesi diğer bir iyon kanalı ile bağlantılıdır. Depolarizasyon ve ardından kanalın açılması, diğer bir kanalın açılmasını veya kapanmasını takip eder. Bu senkronizasyon bozulduğu takdirde, hücresel çevre, çeşitli kanser hücresi davranışlarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir (Fiske ve diğ., 2006). Normal bir epitel hücresinin kanser hücresine dönüşümünde, iyon kanallarının ekspresyonunu etkileyebilecek ya da iyon kanal aktivitesinde bir değişikliğe neden olabilecek düzeyde birtakım genetik değişimler meydana gelebilir. Ortaya çıkan anormal iyon kanal aktivitesi de tümör proliferasyonunu kuvvetlendirebilir (Kunzelmann, 2005). Son zamanlarda yürütülen birtakım kanser araştırmalarında, hastalığın daha malign bir fenotipte seyretmesinde voltaj kapılı iyon kanallarının rolü olduğuna dair görüşler bildirilmektedir. Hücre proliferasyonu, motilitesi ve sağ kalımındaki rolleri açıkça ifade edilen söz konusu kanalları bloklayan ya da indirgeyerek etki gösteren birtakım ilaçların geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Bu nedenle spesifik hedef noktaları olarak ele alınabilecek iyon kanalları kansere yönelik tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde önem taşımaktadır (Fiske ve diğ., 2006). Prostat, meme, kolon, glioma gibi çeşitli kanser tiplerinde proliferasyon ve metastatik sürecin ilerleyişinde voltaj kapılı iyon kanallarının rol oynadığı çalışmalarla ortaya konmuştur (Şekil 2.3.2) (Laniado ve diğ., 1997; Anderson ve diğ., 2003; Preussat ve diğ., 2003; Fraser ve diğ., 2005; Fiske ve diğ., 2006).



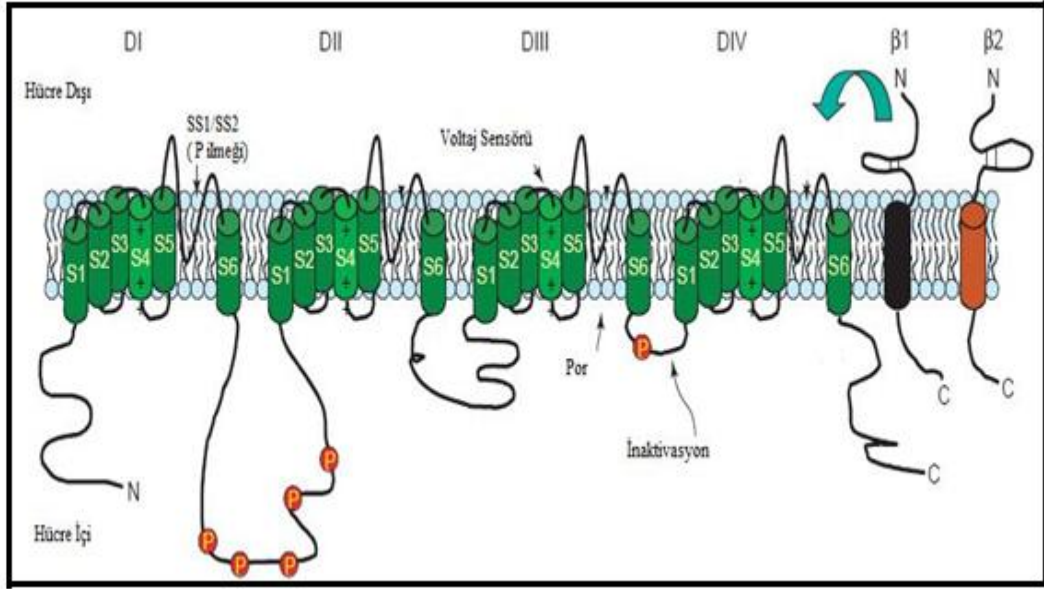
Şekil 2.3.2. Na^+ , Ca^{+2} ve K^+ kanallarındaki artışın, çeşitli kanser tipindeki hücresel süreçlere etkisi.

2.3.1 . Voltaj Kapılı Sodyum Kanalları ve Tetrodotoksin

Voltaj kapılı sodyum kanalları (VGSC), sinir ve kas hücreleri gibi elektriksel olarak uyarılabilen hücrelerde aksiyon potansiyelinin oluşumunu sağlayan transmembran proteinlerdir (Yu ve Catterall, 2003). Ancak voltaj kapılı sodyum akımının glia, lenfosit, osteoblast, fibroblast ve endotel hücreleri gibi uyarılabilir olmayan hücre tiplerinde de bulunduğu ilişkin kanıtların giderek arttığı ifade edilmektedir (Diss ve diğ., 1998; Grimes ve Djamgoz, 1998). Bu durum, sodyum kanallarının hücrede bilinenden çok daha fazla fonksiyonu olduğunu düşündürmektedir.

VGSC'ler, 260 kDa ağırlığında bir alfa (α) alt ünitesi ile 33-36 kDa'luk bir veya daha fazla sayıdaki beta (β) alt ünitelerinden oluşan multimerik bir komplekstir (Şekil 2.3.1.1) (Clare ve diğ., 2000; Yu ve Catterall, 2003). Bir α alt ünitesi, her biri altı adet transmembran segmenti (S1-S6) ile, S5 ve S6 segmentleri arasında yer alan bir ilave segmentten (SS1/SS2 veya P ilmeği) meydana gelmiş dört adet homolog domainden (I-IV) oluşur. Domainler birbirine eksternal ve internal polipeptit zincirleri ile bağlıdır. Pozitif yüklü olan S4 segmenti, voltaj sensörü olarak görev alır ve sodyum kanalının voltaja bağlı aktivasyonunu başlatır. İnaktivasyon, III. ve IV. domainler arasındaki hücre içi kısa ilmek tarafından düzenlenir. S5 ve S6 segmentleri arasındaki SS1 ve SS2 segmentleri porun dış bölgesinde bulunur ve iyon seçici filtre görevi görür (Cestele ve Catterall, 2000; Yu ve Catterall, 2003).

Pordaki α alt ünitesi fonksiyonel ekspresyon için yeterlidir fakat kanalın açılıp kapanmasındaki voltaj bağımlılığı β alt ünitesi tarafından değiştirilir. Ayrıca bu yardımcı β alt üniteleri kanal lokalizasyonunda, hücre adezyon molekülleri, hücre dışı matriks ve hücre içi iskelet ile etkileşimlerde de rol oynarlar.

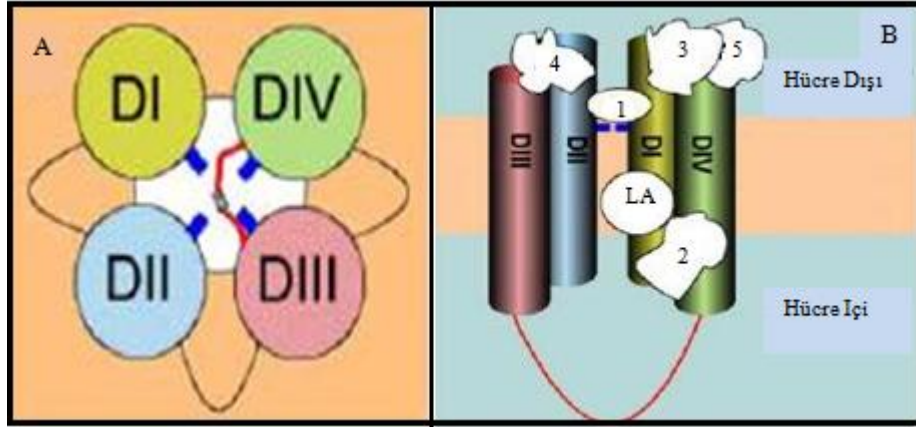


Şekil 2.3.1.1. Voltaj kapılı sodyum kanalının yapısı.

VGSC'lerin α alt ünitesini kodlayan on adet genden ($\text{Na}_v1.1$ - $\text{Na}_v1.9$ ve Na_x) dokuz tanesi ($\text{Na}_v1.1$ - $\text{Na}_v1.9$) fonksiyonel bakımdan aktif durumdadır. Bu genlerden $\text{Na}_v1.1$, $\text{Na}_v1.2$, $\text{Na}_v1.3$ ve $\text{Na}_v1.7$ güçlü bir sodyum kanal bloklayıcısı olan tetrodotoksine hassas (TTX-S), $\text{Na}_v1.5$, $\text{Na}_v1.8$ ve $\text{Na}_v1.9$ tetrodotoksine dirençli (TTX-R) sodyum kanallarını kodlamaktadır.

Uzun zamandır sürdürülen birtakım çalışmalar VGSC'lerin özellikle $\text{Na}_v1.7$ alt tipinin, prostat kanserinin gelişiminde ve ilerlemesinde oldukça önemli rollere sahip olduğunu göstermiştir (Laniado ve diğ., 1997). Yapılan bir başka araştırmada, Dunning sıçan prostat adenokarsinomasından elde edilmiş yüksek derecede motilite yeteneğine sahip olan Mat-LyLu hücrelerinin voltaj aktiviteli Na^+ kanalını eksprese ettiğini fakat diğer taraftan daha az metastatik olan AT-2 hücrelerinin böyle bir özelliğe sahip olmadığını göstermiştir (Grimes ve diğ., 1995). Yüksek metastatik özelliğe sahip olan Mat-LyLu hücrelerinde en az yedi farklı VGSC α alt tipi mRNA bulunmaktadır ve en yüksek mRNA seviyesi $\text{Na}_v1.7$, $\text{Na}_v1.1$ ve Na_x alt tiplerine ait olup, baskın izoform $\text{Na}_v1.7$ 'dir (Diss ve diğ., 2001). Ayrıca Grimes ve Djamgoz (1998) Mat-LyLu hücrelerindeki sodyum kanalının TTX-S tipte olduğunu ortaya çıkarmıştır.

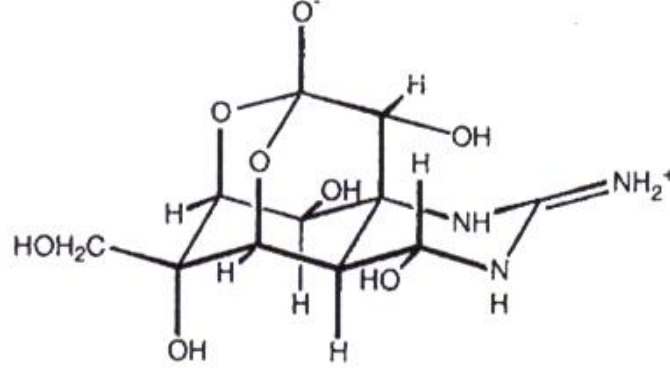
Sodyum kanallarının iyon geçirgenliği üzerinde etki gösteren birtakım maddeler bulunmaktadır. TTX, saksitoksin, grayanotoksin, ciguatoksin veratridin, akonitin, batrahotoksin gibi biyolojik toksinler bunlara örnek olarak gösterilebilir. Na^+ kanalına bağlanma özelliklerine göre toksinler 5 grupta sınıflandırılabilir (Şekil 2.3.1.2). İyon iletimini inhibe ederek kanalın bloklanması neden olan TTX ve saksitoksin site 1'de bağlanma gösterirken; sodyum kanalında kalıcı aktivasyona yol açan batrahotoksin, akonitin ve veratridin gibi toksinler site 2'ye bağlanmaktadır. Site 3'te, yavaş inaktivasyon oluşumuna neden olan deniz şakayığı toksini ve akrep α -toksinleri; Site 4'te, voltaj bağımlı aktivasyonu negatif potansiyellere dönüştüren ve geçici şekilde tekrarlayan bloklamaya sebep olan akrep β -toksinleri; Site 5'te ise kalıcı aktivasyon yaratarak, voltaj bağımlı aktivasyonu negatif potansiyellere çeviren brevetoksinler ve ciguatoksinler bağlanmaktadır (Denac ve diğ., 2000).



Şekil 2.3.1.2. (A) VGSC'nin α alt ünitesini meydana getiren DI- DIV domainlerinin kanal poru etrafında yerleşimi. (B) VGSC ligandların bağlanma siteleri (1- 5) (LA: lokal anestetik bağlanma sitesi).

VGSC'ye karşı spesifikliğı yüksek bir bloker olan TTX (Şekil 2.3.1.3), Tetraodontidae familyasına ait pek çok balık türünden izole edilmiş, düşük moleköl ağırlıklı, protein yapıda olmayan oldukça güçlü bir nörotoksindir (Wu ve diğ., 2005). TTX, kanal üzerindeki etkisini poru bloklayarak gerçekleştirmektedir. TTX, voltaj kapılı sodyum kanallarında reseptör bölgesine sahip olan nörotoksinlerden biridir ve zarın dış tarafındaki birinci reseptör bölgesine bağlanarak sodyum iletimini bloke eder. TTX'in bağlandığı reseptör bölgesi, her dört domaindeki S6 segmentinin N-terminal tarafındaki SS2

segmentinde lokalize olmuş iki aminoasit halkasından meydana gelmektedir (Cestele ve Catterall 2000).



Şekil 2.3.1.3 TTX'in kimyasal formülü.

TTX, sodyum kanalına oldukça sıkı bir şekilde bağlanmaktadır. TTX, hidratlı sodyum katyonu (Na^+OH_2) gibi davranarak kanalın ağzına girer, peptid zincirindeki glutamat grubuna bağlanır ve peptid zincirinin konformasyonel değişim geçirmesiyle kanala daha sıkı tutunur. Hidratlı sodyum iyonu saniyenin dokuzda biri kadar bir sürede kanala geri dönüşümlü olarak bağlanırken, TTX, saniyenin onda birinde kanala bağlanır ve burada kalmaya devam eder. Sodyumun kanaldan girişini engelleyerek sodyum akımının etkili bir şekilde durmasını sağlar (Johnson, 2002).

Prostat kanserinde olduğu gibi, hastalığın metastatik seyrinde VGSC'lerin rolü olduğuna dair bilgilerin mevcut olduğu meme kanseri hücreleri ile gerçekleştirilen bir çalışmada, Na^+ akımlarının metastatik kapasite ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Oldukça fazla agresif ve metastatik MDA-MB-231 hücrelerinde hücre içerisine doğru hızlı bir iyon iletimi tespit edilirken, daha az agresif olan MCF-7 hücrelerinde böyle bir bulguya rastlanmamıştır. TTX, uygulanmasıyla MDA-MB-231 hücrelerinde belirgin bir şekilde metastazda indirgenmenin kaydedilmesine yol açmıştır. MDA-MB-231'lerdeki metastatik potansiyelin $\text{Na}_v 1.5$ 'in yüksek oranda ekspresyonu ile ilişkili olduğu düşünülürken, meme kanserindeki malignant potansiyelin gelişiminde Na^+ kanallarının fonksiyonu açıkça ortaya konulmuştur (Bennett ve diğ., 2004; Fraser ve diğ., 2005; Roger ve diğ., 2006).

Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücreleriyle yapılan çalışmalarda, hücrenin metastatik özelliğinin bir belirteci olan hareket yeteneği farklı metodlar ile *in vitro* olarak tespit edilebilmektedir. Özellikle lateral hareketin değerlendirildiği “wound heal” yöntemi ile 1 μ M TTX’in, Mat-LyLu hücrelerinin lateral motilitesini %47 oranında azalttığını gösterilmiştir (Fraser ve diğ., 2003). Hücrelerin bazal membranı geçme yeteneği olarak adlandırılan ve metastatik sürecin vazgeçilmez bir adımı olan “invazyon” ise, “Boyden chamber” yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirildiğinde 600 nM TTX’in, Mat-LyLu hücrelerinin giriciliğini %33 oranında azalttığı, ancak, düşük metastatik AT-2 hücrelerinin invazyon yeteneklerinde ise, bir değişiklik meydana getirmediği tespit edilmiştir (Grimes ve diğ., 1995). Diğer bir yöntem olan “Transverse migration” metodu da, TTX uygulamasının, Mat-LyLu ve PC-3 hücrelerinin hareket yeteneklerini azalttığını ortaya koymuştur (Ding ve diğ., 2008). Değişen derecelerde metastatik potansiyele sahip sıçan ve insan prostat kanser hücreleriyle çalışan Smith ve diğ., (1998) hücrelerin invazyon yetenekleri ile plazma membranlarındaki VGSC protein ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu saptamışlardır.

Mat-LyLu hücreleri ve TTX ile yapılan *in vitro* çalışmalarda, TTX’in hücre hareketi üzerinde belirgin bir etki göstermesine karşın, Mat-LyLu hücrelerinin çoğalması üzerinde bir etki meydana getirmediği belirlenmiştir. 600 nm, 1 μ M ve 6 μ M konsantrasyonlarda uygulanan TTX’in 48. saatte hücre çoğalmasını inhibe edici veya toksik bir etkisine rastlanmamıştır (Grimes ve diğ., 1995; Recatala., 1999; Fraser ve diğ., 2000; Fraser ve diğ., 2003).

Altun ve Djamgoz (2008) yüksek metastatik özellikteki Mat-LyLu hücrelerinin Copanhen ırkı sıçanlara deri altı olarak enjekte edilmesiyle oluşturulan prostat kanser modeline, TTX’i intratümöral olarak uygulamaları sonucunda; primer tümör büyümesinin ortalama %34 oranında kısmi olarak inhibe olduğunu, akciğer metastazlarının %44 oranında azaldığını ve hayvanların yaşam süresinin %22 oranında arttığını göstermişlerdir.

VGSC ekspresyonunun metastatik süreçte hızlandırıcı bir faktör olarak rol oynadığını, hastalığın teşhis ve tedavisinde bir markır olma potansiyeli taşıdığını gösteren tüm bu çalışmalar (Le Guennec ve diğ., 2007; Yıldırım ve diğ., 2009) VGSC’leri prostat

kanserinde yeni terapötik hedef olarak karşımıza çıkartırken, VGSC'lere spesifik ajanların ve bunların etkilerinin aydınlatılmasındaki önemi vurgulamaktadır.

2.4. PROSTAT KANSERİ ARAŞTIRMALARINDA DENEYSEL MODELLER

Kanser tedavisine yönelik yürütülen prelinik çalışmalarda ve kanserin moleküler esaslarına ilişkin önemli aşamaların kaydedilmesinde deney hayvanları ile oluşturulan araştırma modellerinin geçmişi oldukça uzun yıllara dayanmaktadır. Çeşitli deneysel modellerle gerçekleştirilen oldukça fazla sayıdaki bu çalışmalar, birçok hastalığa yönelik yenilikçi ve yararlı tedavi yaklaşımları sağlanması açısından yol gösterici olmuştur (Vail ve Macewen, 2000).

Prostat kanseriyle ilgili çeşitli deneylerin yapılabilmesi için ideal yeterlilikte bir hayvan modelinde bulunması gereken özellikler uzun zamanlardan beri tartışılmaktadır. Öncelikle bu amaçla seçilecek bir modelde geliştirilecek tümörlerin, insan prostat kanseriyle önemli derecede benzerlik göstermesi amaçlanmaktadır. Dolayısıyla bu adenokarsinomların metastaz yapabilen, androjen duyarlı ve yavaş gelişme gösteren özellikte olmaları gerekmektedir. Ayrıca insan prostatına homoloji gösterecek dokudan orijinlenmeleri de önemli sayılmaktadır. Farelerde ve sıçanlarda bahsedilen yer dorsolateral ya da anterior prostat olarak kabul edilmektedir. Bunun yanı sıra, insan prostat kanseriyle benzer patogenezi, moleküler değişimleri sergilemeleri ve diğer doğal olayları da taklit ederek, prostatik intraepitelyal neoplazi (PIN) gibi benzer prekürsor lezyonlardan gelişmeleri gibi durumlardan da söz edilmektedir. Ele alınacak model, bağıntısız olarak çalışılabilecek saptanabilir düzeyde inisiyasyon, promosyon ve progresyon aşamalarını içermeli ve karsinogenez inhibisyonunun tespit edilebilmesi açısından tümör insidansının da yüksek olması önem taşımaktadır (Bosland, 1999).

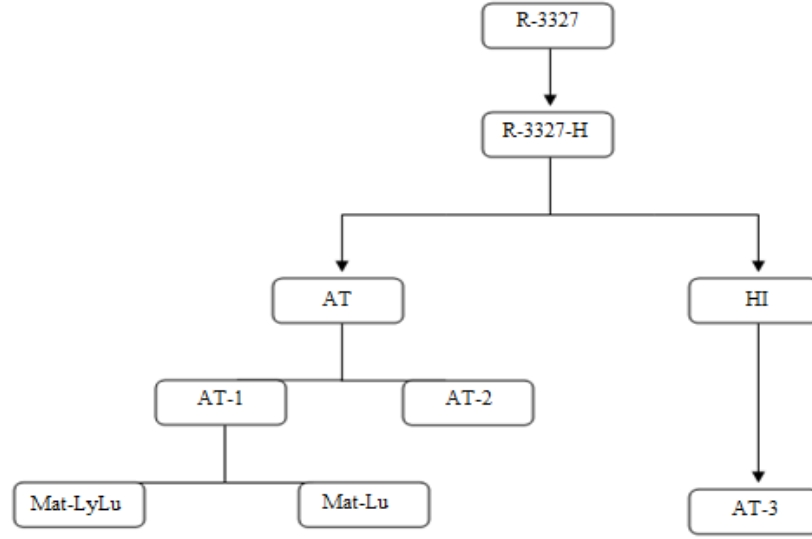
Farklı tipte kanser çalışmalarını sürdürebilmek amacıyla çeşitli modeller oluşturulmakla beraber, prostat kanseri çalışmaları için sıçanlarda dört model sistem geliştirilmiştir. Bunlar Dunning, Noble, ACI ve Pollard tümör modelleridir (Pollard, 1980).

2.4.1. Dunning Modeli

Sıçan prostat kanseri Dunning modeli; kanser araştırmalarında geniş bir kullanım alanına sahip, androjen bağımsız büyüyen, primer tümörlerin ve metastazların moleküler tekniklerle çalışılmasına oldukça elverişli olan, hem *in vivo* hem de *in vitro* pasajları yapılabilen ve birden fazla sayıda tümör hücre soyuna sahip bir modeldir. Orijinal Dunning tümörü ilk olarak inbred yaşlı bir Copenhagen sıçanın dorsal prostat epitelinde spontan olarak gelişen bir tümör olarak gözlenmiştir ve bunu takiben bu tümörden elde edilen grafter singeneik Copenhagen ve Copenhagen X Fisher F1 hibritlerine transplante edilmiştir. Bu tümör, iyi diferansiye olan, yavaş gelişen ve metastatik olmayan karaktere sahip bir prostat adenokarsinomudur.

Orijinal tümörden gerçekleştirilen seri pasajlar sırasında; iyi diferansiye, yavaş büyüyen, androjene hassas R-3327-H tümörü gelişmiştir. Bu tümörün herhangi bir uygulama yapılmamış ve kastre edilmiş sıçanlara seri pasajlarına devam edildiğinde, kastre edilmiş hayvanlardan iyi diferansiye, yavaş büyüyen ve androjen bağımsız R-3327-HI tümörü, diğer gruptan ise; hızlı büyüyen, androjen bağımsız ve anaplastik R-3327-AT tümörü elde edilmiştir. R-3327-AT tümörünün seri olarak gerçekleştirilen derialtı pasajları sonucunda hızlı büyüyen, anaplastik ve zayıf metastatik AT-1 ve AT-2 tümörleri ortaya çıkmıştır. AT-1'in *in vivo* olarak yapılan seri pasajlarının ardından yüksek metastatik özelliğe sahip iki farklı hücre soyu ortaya çıkmıştır. Hızlı büyüyen ve androjen bağımsız özellikteki bu tümörlerden Mat-LyLu lenf noduna ve akciğere, Mat-Lu ise, sadece akciğere metastaz yapmaktadır (Şekil 2.4.1.1) (Navone ve diğ., 1999; Tennant ve diğ., 2000).

Büyük ve kolayca ayırt edilebilen bir nukleusa sahip, poligonal, ince ve uzun morfolojide olan Mat-LyLu hücreleri, hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamda benzer özellikler sergilemektedir. Kromozom sayıları 58 olan bu hücrelerin *in vitro* ortamda iki kat olma zamanı 19,7 saat olarak tespit edilmiştir (Wenger ve diğ., 1984).



Şekil 2.4.1.1. Dunning sıçan prostatik adenokarsinoma hücre orijinlerinin şematik gösterimi.

2.5. ANTİEPİLEPTİKLER

Halk arasında sara olarak da bilinen epilepsi, tekrarlayıcı nöbetlerle karakterize edilen ve bu nöbetlerin spesifik tedaviyi gerektirdiği kronik bir hastalıktır. Epileptik bir nöbet, beyindeki anormal elektrik deşarjının neden olduğu bir ataktır ve duyu-motor fonksiyonlarında, davranışta, hafıza veya bilinçte ortaya çıkan ani değişikliklerle kendini gösterir (Özateş ve diğ., 2003). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde sık karşılaşılan kronik ve nörolojik sorunlardan biri olan epilepsi; gerek tek başına, gerekse diğer hastalıklara eşlik eden bir semptom olarak, morbidite ve mortalitenin yanı sıra iş verimini ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkileyen bir hastalıktır (Yılmaz ve diğ., 2000). Epilepsi insidansı toplumdan topluma değişmekle beraber, genellikle yüz binde 20-50; bu hastalığa sahip kişilerin oranı ise, binde 4-10 olarak bildirilmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde sağlıkla ilgili altyapı yetersizlikleri, semptomatik ve özellikle perinatal sebeplere bağlı epilepsi, bu oranların artmasına neden olmaktadır (Topalkara ve diğ., 1999; Erdinç ve diğ., 2001; Baykan ve diğ., 2004).

Uluslararası Epilepsi ile Mücadele Birliği, 1981 yılında epilepsiyi nöbet tiplerine göre sınıflandırmış ve tüm dünyada halen bu sınıflandırma kullanılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre epilepsi, fokal (parsiyel) ve jeneralize nöbetler olarak ayrılmaktadır. Parsiyel nöbetlerde, ilk klinik ve elektrografik belirtiler ile nöbet başlangıcı, bir serebral hemisferin

belirli bir bölgesinde yer alan nöronların aktivasyonundan kaynaklanır. Parsiyel bir nöbet kendi içerisinde temel olarak şuurun etkilenip etkilenmediğine göre iki gruba ayrılır. Şuurun etkilenmediği nöbetler basit parsiyel nöbetler olarak tanımlanırlar. Eğer şuur etkilenmişse, bu durumda nöbet, kompleks parsiyel nöbet olarak ifade edilir. Şuur etkilenmesi nöbetin hemen başlangıcında ortaya çıkabileceği gibi, basit bir parsiyel nöbeti takiben de olabilmektedir. Bu durumda, bilinci etkilenen bir hastada davranışsal sapmalar (otomatizmalar) kendini gösterebilir. Diğer grup olan jeneralize nöbetlerde ise, ilk klinik ve elektrografik göstergeler, her iki hemisferin aynı anda etkilendiğini gösteren belirtilerle başlar. Nöbetler sırasında bilinç halinde değişiklik gözlenebilmekte ve bu durum da nöbetin ilk belirtisi sayılabilmektedir (Yeni ve Karaağaç, 2005).

Yeni ve Karaağaç (2005) etiyojilerine göre, epilepsiyi üç ana gruba ayırmaktadır:

- 1) Semptomatik epilepsi: Merkezi sinir sistemi hastalığına bağlı olarak ortaya çıkan, provoke olmaksızın tekrarlayan nöbetlerdir.
- 2) Kriptojenik epilepsi: Bugünkü koşullarla altta yatan sebebin tanımlanamadığı ancak muhtemelen semptomatik epilepsi grubu içerisinde yer alan epilepsilerdir. Bu gruba giren epilepsiler tedavi tekniklerindeki gelişmelere bağlı olarak zamanla azalmakta ve yerini semptomatik epilepsilere bırakmaktadır.
- 3) İdiyopatik epilepsi: Genetik olarak taşınan epilepsiler olarak tanımlanırlar ve birtakım sendromlar da bu grupta yer almaktadır.

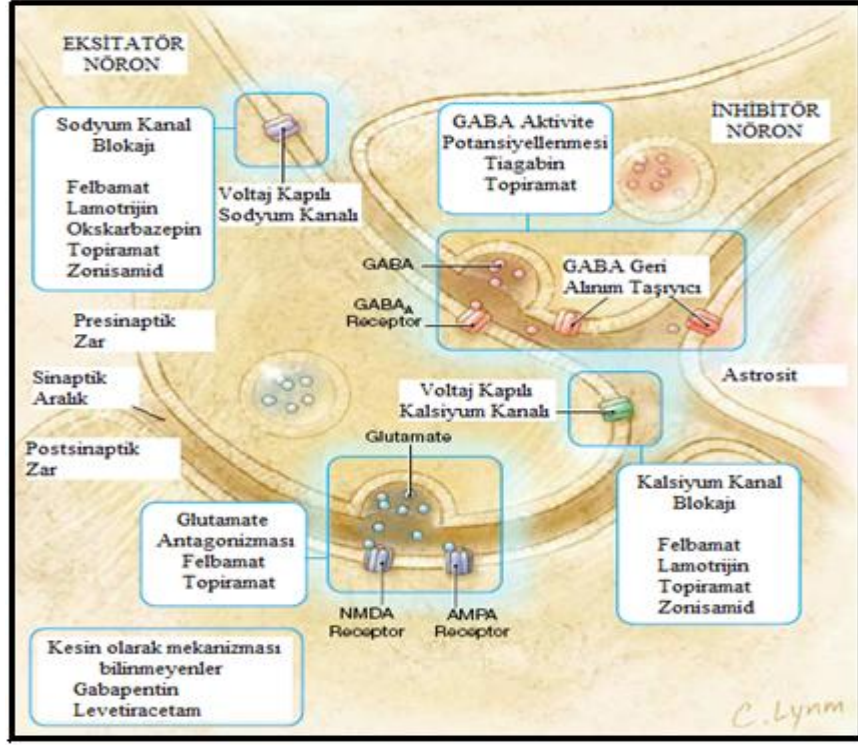
Hastalığın belirtilerinin beyin, duyu iletim sistemi içinde eksik regülasyon ile meydana geldiği düşünülmektedir. Beynin belli bir odağına ulaşan ani uyarı, vücudun buna karşı cevabı ile aynı noktada bloke edilir ve böylece beynin küçük bir bölümü fonksiyon dışı kalır. Bazen bu odak daha geniş bir alanı kapsayabilir ki, o zaman periferik kadar yayılarak, derin bilinç ve hafıza kaybı yanında, daha ağır kramplara neden olan ani ataklar halinde görülür. Hastalığın bütün bu belirtileri elektroensefalogram ile saptanabilmektedir. Çocuklarda görülen epilepsinin temel nedenleri doğum hasarı, metabolik hastalıklar ve gelişme eksikliği iken, çarpma, travma, tümörler ve diğer beyin rahatsızlıkları yetişkinlikte başlayan epilepsinin en bilinen sebepleridir.

Epilepsi tedavisinde kullanılan antikonvülzanlar (antiepileptik ilaçlar), merkezi sinir sistemini seçici olarak deprese eden (baskılayan) ilaçlardır. Bu ilaçlar esas olarak merkezi

sinir sistemine zarar vermeden ve solunumu etkilemeksizin sadece epileptik nöbetlerin baskılanması için kullanılırlar. Bu ilaçlar hastaların %75-80'inde etkilidirler. Epilepsinin semptomatik tedavisi amacıyla kullanılan antiepileptik ilaçlar motor uyarılabilirliğini etkilemeden nöbet şuur eşiğini arttırmalıdır. Terapötik dozlarda sedatif ve hipnotik olmamalı, kronik dozlarda bile bu etkiler gözlenmemelidir. Hasta tüm hayatı boyunca antikonvülzan alma ihtiyacında olduğundan ilaçların toksisitesine dikkat edilmelidir. Birçok antiepileptik ilaç, kemik iliği depresyonu, karaciğer ve böbrek tahribatı, gastrointestinal rahatsızlıklar, uyusukluk, kellik ve nefropati gibi yan etkilere neden olmaktadır. İlaç etkileşimleri, antikonvülzanlar arasında yaygındır. Bunlar genel olarak; enzim indüksiyonu ve/veya biyotransformasyonda yer alan hepatik mikrozomal enzimlerin inhibisyonu, asidik pH ve bazı ilaçların proteine bağlanmasında değişiklikler gibi durumların herhangi birine neden olabilmektedir (Çalış, 2002).

Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları; inhibitör GABAerjik transmisyonu arttırmak, uyarıcı glutamaterjik nörotransmisyonu azaltmak, voltaj bağımlı sodyum veya kalsiyum kanallarını bloke etmek, hücre içi sinyal yollarını etkilemek şeklinde sınıflandırılabilir (Johannessen, 2008).

Antiepileptik ilaçların bileşiminde yer alan etken maddeler; konvansiyonel ve yeni nesil olmak üzere sınıflandırılabilir. Konvansiyonel grup içerisinde; benzodiazepinler, karbamazepin, fenobarbital, fenitoin ve valproat gibi isimler sayılabilir. Yeni nesil ilaçlar kapsamında ise, felbamat, gabapentin, lamotrijin (LTG), levetirasetam, okskarbazepin (OXC), tiagabin, topiramat, vigabatrin ve zonisamid bulunmaktadır. Bu ilaçlar birtakım temel aksiyon mekanizmalarına sahip olsa da, ilaçların birçoğu birden fazla mekanizmayla etki göstermektedir (Şekil 2.5.1) (La Roche ve Helmers, 2004; Trojnar ve diğ., 2002; Czapiński ve diğ., 2005).



Şekil 2.5.1. Yeni nesil antiepileptiklerin başlıca etki mekanizmaları. NMDA: N-metil-D- aspartat, AMPA: alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-isokzol propionik asit, GABA: gamma-aminobutirik asit).

Antiepileptik ilaçlar etki mekanizmalarına göre başlıca üç grupta sınıflandırılabilir:

1. Voltaj bağımlı sodyum ve kalsiyum kanallarını bloke edenler: Karbamazepin, okskarbazepin, gabapentin, lamotrijin, fenobarbital, fenitoin, topiramate ve valproat.
2. GABA aracılı olayları ($GABA_A$ reseptör kompleksi üzerinde yer alan spesifik bağlanma yerlerinin etkileşimiyle, GABA metabolizmasının inhibisyonu ya da nöronal alınıminin azalması yoluyla) arttıranlar: Benzodiazepinler, gabapentin, fenobarbital, tiagabin, topiramate, vigabatrin ve valproat.
3. T-tipi kalsiyum kanallarını bloke edenler: ethosüksimit ve zonisamid.

Sınıflandırılan gruplara ek olarak; eksitator aminoasitler aracılığıyla direkt olarak uyarılmayı indirgeyen, fenobarbital ve felbamate'in yer aldığı ayrı bir grup daha dahil edilebilir (Czapiński ve diğ., 2005). Tüm bu bilgilere karşın, antiepileptik ilaçların mekanizması tam anlamıyla açıklığa kavuşturulamamıştır. Yine de yeni nesil antiepileptiklerin konvansiyonel olanlara kıyasla; hepatoksisite, ürtiker gibi örnek sayılabilecek, sıklıkla tetiklenen yan etkiler açısından daha tolere edilebilir olduklarını ayrıca vurgulamak gerekmektedir (Trojnar ve diğ., 2002; Czapiński ve diğ., 2005).

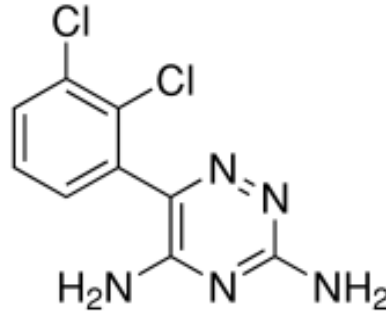
Epileptik nöbetler; merkezi sinir sisteminde meydana gelen anormal fokal ya da jeneralize senkron elektrik deşarjlarının sonucu olarak indüklenmektedir. Nöronlar arasındaki iletişimin dengesi eksitatör ve inhibitör devreler tarafından oluşturulmuş bir ağ tarafından düzenlenmektedir. Eksitatör mekanizmadaki bir artış ya da inhibitör mekanizmasındaki azalış, bu dengenin bozulmasına ve dolayısıyla epileptik deşarjların ortaya çıkmasına yol açabilmektedir. Nöronlar arasındaki iletişim ve elektrofizyolojik eksitabilitede iki ana mekanizma rol oynamaktadır: Aksiyon potansiyelleri aracılı aksonal iletim ve sinaptik iletimle hücreden hücreye sinyal aktarımı. Bu işleyişin temelini de iyon kanalları oluşturduğundan, mutasyon indüklü herhangi bir kusurun kanalda oluşumu direkt olarak beyin eksitabilitesinde değişiklik yaratabilmekte ve epileptik nöbetleri tetikleyebilmektedir (Lerche ve diğ., 2001).

Sinir sistemindeki, voltaj kapılı iyon kanalları, yüzey ile internal hücre zarı arasında karşılıklı katyon akışını kontrol etmektedir (Barchi, 1998). Nöronal fonksiyonlarda anahtar rolündeki araçlar olarak VGSC'ler, depolarizasyonlarda yanıt olarak geçici bir süre boyunca plazma zarının Na^+ ya karşı iletkenliğini artırır (Lai ve Jan, 2006; Mantegazza ve diğ., 2010). Muhtemelen sodyum kanallarının önemi buradan kaynaklanmaktadır. Sinir sisteminin intrinsik eksitabilite kontrolünden ve nöronal aksiyon potansiyelinin çıkışından voltaj bağımlı sodyum kanalları sorumludur (Porter ve Rogawski, 1992). Nöronal sodyum kanalı, plazma membranı arasından geçen Na^+ seçici, voltaj kapılı bir pora sahip, çok alt üniteli bir yapıdan oluşmaktadır. Membran potansiyelindeki değişikliklere cevap olarak, intrinsik por aracılığı ile iletimi düzenleyen bu protein yapı çeşitli konformasyonel değişikliklere uğramaktadır (Ragsdale ve Avoli, 1998). İyon iletici poru oluşturan ve voltaj bağımlılık özelliği sergileyen α alt ünitesi, nöronal sodyum kanalının esas yapısal birimidir (Catterall, 1992). Memeli beyinde α alt ünitesi, $\beta 1$ ve $\beta 2$ olarak adlandırılan iki yardımcı alt ünite ile ilişkilendirilmektedir. Sodyum kanalının temel aktivitesinde β alt ünitelerine ihtiyaç duyulmasa da bunlar başlı başına kanalların ekspresyonunun ve fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol almaktadır (Ragsdale ve Avoli, 1998).

2.6. KULLANILAN FARMAKOLOJİK AJANLAR

2.6.1. Lamotrijin (LTG)

Folik asit antagonistleri grubundan bir feniltiazin türevi olan lamotrijin (3,5-diamino-6-(2,3-diklorofenil)-1,2,4-triazin) (Şekil 2.6.1.1); VGSC'leri bloke edici (Lang ve diğ., 1993; Waldmeier ve diğ., 1995; Zona ve Avoli, 1997) kalsiyum ve potasyum kanallarını düzenleyici özellikte etki profiline sahip yeni nesil antiepileptik bir ajandır (Jefferson, 2005; Stefan ve Feuerstein, 2007). Parsiyel ve jeneralize epilepsilerin tedavisinde kullanılan geniş spektrumlu bir antikonvülzandır.



Şekil 2.6.1.1. LTG'nin kimyasal formülü

LTG, presinaptik ve postsinaptik olmak üzere iki yol ile etkisini göstermektedir. Presinaptik şekilde etkisini, aralarında eksitator amino asitlerden glutamat ve aspartatın da bulunduğu, nörotransmitterlerin salınımını inhibe ederek sergiler. Postsinaptik yolla, diğer antikonvulsif sodyum kanal bloklayıcıları gibi nöronların eksitabilitesini azaltarak görev yapar (Wang ve diğ., 1996; Rogawski ve Löscher, 2004). LTG'nin 1994 yılında klinik kullanımı onaylanmış ve Lamictal adı ile ticari olarak satılmaktadır. Bu ajanın etkinliği; karbamazepin (Brodie ve diğ., 1999), fenitoin (Steiner ve diğ., 1999), valproik asit (Pisani ve diğ., 1999) gibi ilaçlarla ve plaseboyla (Schapel ve diğ., 1993) kıyaslanarak çeşitli yollarla araştırılmıştır. LTG, yetişkinlerde ve on iki yaşından büyük çocukların monoterapi ve birleşik epilepsi tedavilerinde kullanıldığı gibi refraktör parsiyel nöbetlerde ve jeneralize epilepsilerde de kullanılmaktadır.

Sıçan neokortikal kesitlerinde glutamat birikmesinin inhibisyonuna dayanan, hayvan modelleriyle yürütülmüş birtakım çalışmalar LTG'nin anlamlı derecede bir nöroprotektif

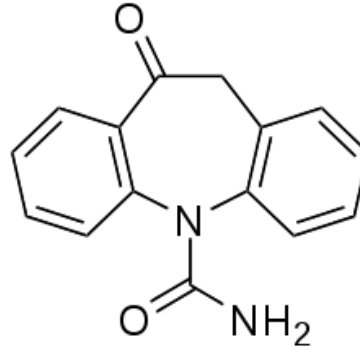
etkiye sahip olduğunu öne sürmektedir (Shuaib ve diğ., 1995). Nöroprotektif dozaj antikonvülsif terapide kullanılan miktarla benzerlik gösterebilmektedir (Crumrine ve diğ., 1997). Ayrıca LTG'nin Parkinson hastalığının ekstraprimidal yan etkilerinin tedavi edilmesinde de uygulamasının mevcut olduğu (Zipp ve diğ., 1993) ve bu etkinin glutamat salınımının inhibisyonundan kaynaklanabileceği öne sürülmüştür. Bipolar rahatsızlıklarda, LTG'nin depresif fazların tekrarını azalttığı da bildirilmektedir (Calbrese, 2000). Epilepsili hastalarda valproik aside kıyasla depresif dereceyi indirgediği belirlenmiştir (Edwards ve diğ., 2001). En sık görülen yan etkileri; baş dönmesi, ataksi, görme bozukluğu, bulantı, kusma ve olguların %6-10'unda gözlenen deri döküntüleri şeklindedir (Eşkazan ve Onat, 2008).

LTG'nin voltaj ve frekansa bağlı bir sodyum kanal blokeri olduğunu destekleyen, fare nöroblastoma hücrelerinde (Lang ve diğ., 1993), sıçan hippocampal nöronlarında (Kuo ve Lu 1997) ve sıçan beyin tipi IIA Na⁺ kanalı ekprese eden Çin hamster ovaryum hücrelerinde (Xie ve diğ., 1995) birtakım çalışmalar yürülmüştür. Sıçan beyin kesitleri üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, endojen glutamat, (³H)-GABA ve (³H)- dopamin salınımında LTG'nin etkisine bakılmış ve glutamat salınımının baskılanmasında, sodyum kanallarının bloklanması bir etkisi olabileceği ve bu bloklanmanın da LTG tarafından gerçekleştirildiği gösterilmiştir. *In vitro* koşullarda, striatal hücrelerde antiepileptiklerden LTG, fenitoin ve gabapentinin etkilerinin elektrofizyolojik olarak araştırıldığı bir çalışmada; değişik konsantrasyonlarda (10-300 µM) LTG kullanılarak, doza bağlı bir şekilde sodyum bağımlı aksiyon potansiyellerinde bir azalma kaydedilmiştir (Calabresi ve diğ., 1999). Sıçan serebellar granül hücrelerinde; LTG'nin (10-500 µM) ekstraselüler uygulanması sonucunda, voltaj kapılı sodyum kanallarındaki akımda bir azalma olduğu ise, “patch clamp” yöntemiyle ortaya konmuştur (Zona ve Avoli, 1997).

2.6.2. Oksarbazepin (OXC)

Karbamazepin'in 10- keto analogu olan, okskarbazepin (10, 11-dihidro-10-okso-karbamazepin) (Şekil 2.6.2.1), diğer ilaçlarla daha az etkileşim sergileyen, yan etkiler bakımından türevlendiği bileşikten daha hafif bir profile sahip yeni nesil antiepileptiklerdendir (Leach ve Brodie, 1995). OXC, suda az çözünür, nötral lipofilik yapıda bir bileşiktir. İnsanlarda, OXC'nin çoğu doğrudan doğruya esas aktif metaboliti 10-

monohidroksi türevi olan, 10,11, dihidro-10-hidroksi-5H-dibenzo(*b,f*)azepin-5-karboksamid (MHD)'ye çevrilir (Tecoma, 1999; Ambrosio ve diğ., 2002). Aksiyon mekanizması karbamazepin ile benzerlik gösterse de aynı değildir. OXC, primer etkisini VGSC'leri inhibe ederek ortaya koymaktadır (McLean ve diğ., 1994; Waldmeier ve diğ., 1995; Meldrum, 1996). Dibenzazepin nükleusunun 10. ve 11. pozisyonlardaki keto yer değişimlerinin karbamazepine kıyasla ilacın terapötik etki profilini değiştirmese de daha iyi bir toleransa ve farklı bir biyotransformasyona kavuşmasına neden olmuştur (White, 1999). Diğer lisanslı antiepileptiklerden dikkat çekici bir farklılıkta, potasyum kanallarının iletkenliğinin artmasında etkindir (McLean ve diğ., 1994). Klinik kullanımı 2000 yılında onaylanan ve Trileptal ticari adı ile satılan OXC, epilepsi rahatsızlığındaki tonik-klonik ve parsiyel nöbetlerin tek başına ya da kombinasyonlu tedavisinde kullanılan bir antikonvülzandır.



Şekil 2.6.2.1. OXC'nin kimyasal formülü

Karbamazepin'den farklı olarak OXC'nin potasyum ve kalsiyum kanalları üzerine ve karbamazepin'den daha geniş terapötik spektrumda sonuçlar verebilecek şekilde glutamat salınımında birtakım etkileri bulunmaktadır (Stefani ve diğ., 1995). Fenitoin, valproik asit, karbamazepin ve plaseboyla karşılaştırılarak etkinliği gösterilmeye çalışılmıştır (Cramer ve diğ., 2001). OXC, enzimatik yolla bir monohidroksi derivatif meydana getirerek indirgenir. Hepatik sitokrom-P450 izoenzimleri ile metabolize edilmemektedir. Bu yüzden sitokrom-P450 sistemi ile metabolize edilen diğer ilaçlarla herhangi bir etkileşim yaratmaz (Larkin ve diğ., 1991). Ayrıca muhtemelen kalsiyum akımlarının eşikliğini bloke ederek, presinaptik glutamat salınımını azaltmaktadır (Calabresi ve diğ., 1999; Stefani ve diğ., 1995; Stefani ve diğ., 1997). Bazı veriler OXC'nin, GABA_A reseptörlerinin potansiyelini de bir ölçüde arttırdığını öne sürmektedir (Zheng ve diğ., 2009). OXC'nin insanlarda mutajenite ya da

teratojeniteye sebep olduğunu gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Antikonvülzan etkisinin yanında psikiyatrik hastalıklarda da pozitif etkisinin bulunduğu gözlemlenmiştir. Enzim indüklü bir tesirinin olmaması, OXC terapisinde iyi bir etkinlik elde edilebilmesi açısından özel bir avantaj sağlamaktadır (Stefan ve Feuerstein, 2007). Ağrılı diyabetik nöropatisinde etkili bir ajan olduğunu belirten raporlar mevcuttur (Dogra ve diğ., 2005; Beydoun ve diğ., 2006; Güven ve diğ., 2010).

OXC terapisinde en sık karşılaşılan yan etkiler; yorgunluk, baş ağrısı, mide bulantısı ve ataksidir. OXC'nin muhtemel bir dezavantajı hiponatremi (kandaki Na^+ seviyesinin düşüklüğü) yaratması olabilir (Tecoma, 1999).

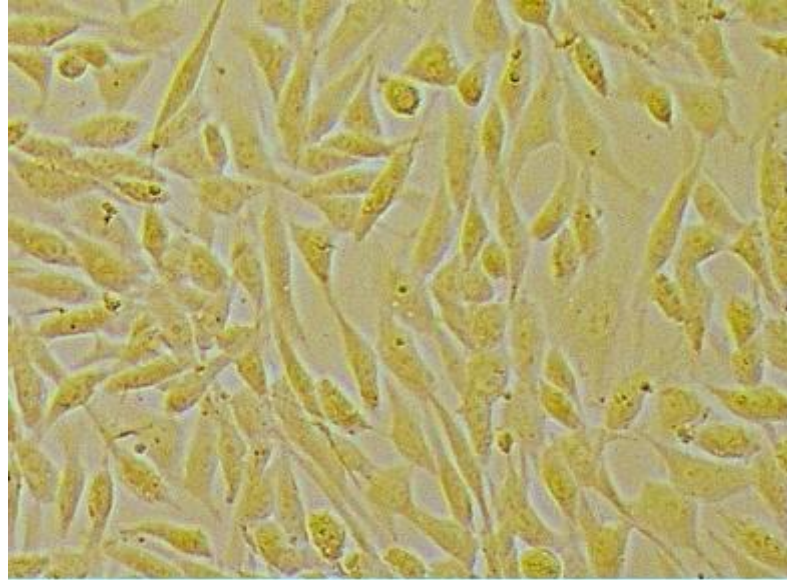
Kullanılan antiepileptiğin, minimal derecede protein bağlaması onu ideal antiepileptik sınıfına koymaktadır. Çünkü serum protein bağlanma noktaları için rekabet ilaç etkileşimlerini tetiklemektedir. Bu ise, ortaya çıkacak yan etkilerin fazlalaşmasına sebebiyet verebilmektedir. OXC'nin aktif metaboliti olan MHD (monohidroksi derivatif), yüksek protein bağımlılığı göstermeyen bir bileşiktir. Bu bağımlılık oranı karbamazepinde %76 oranında iken OXC için %40 kadardır (Tecoma, 1999).

In vitro koşullarda gerçekleştirilen birtakım çalışmalar OXC'nin aksiyon metabolizmalarından birinin, karbamazepine benzer şekilde yüksek frekanslı, voltaj duyarlı Na^+ kanallarının inhibisyonu olduğunu ortaya koymaktadır (McLean ve diğ., 1994; Wamil ve diğ., 1994). Hippokampal nöronal hücrelere uygulanan OXC'nin reaktif oksijen türevlerinde artışa, mitokondriyal zar potansiyelinde ise, azalmaya neden olduğu ve uygulandığı 300 μM 'lık dozla bu hücreler üzerinde toksik etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Araujo ve diğ., 2004).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. HÜCRE KÜLTÜRÜ

Dunning sistemine ait sıçan prostat kanseri hücre soylarından biri olan Mat-LyLu hücreleri; Imperial College of Science, Technology and Medicine, Biological Science Department (Londra, İngiltere'den) temin edilmiştir. Düzenli bir şekilde laboratuvarımızda pasajları yapılan Mat-LyLu hücreleri, 250 nM deksametazon, %1 fetal bovin serum ve 2 mM L-glutamin ilave edilerek hazırlanan Roswell Park Memorial Institute (RPMI-1640, Invitrogen) medyum ile, 37 °C sıcaklık ve %5 CO₂ içeren ortam koşullarına sahip olan etüv içerisinde yetiştirilmektedir (Şekil 3.1.1).



Şekil 3.1.1. *In vitro* olarak yetiştirilen Mat-LyLu sıçan prostat kanser hücreleri.

3.2. FARMAKOLOJİK AJANLARIN HAZIRLANMASI

3.2.1 Lamotrijin

Toz halindeki 10 mg'lık LTG ($\geq 98\%$, Sigma) kendi stok şişesi içerisinde, 1 ml dimetil sülfoksit (DMSO, Sigma) ile ilacın tamamı çözülerek, konsantrasyonu 39048 μM olan bir stok solüsyon elde edilmiştir. Bu stok solüsyon ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile sarılarak kullanılıncaya kadar buzdolabında $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.2.2. Okskarbazepin

10 mg'lık toz formdaki OXC ($\geq 98\%$, Sigma), 1,2 ml DMSO (Sigma) ile stok şişe içerisinde tamamı çözülerek, 33033,39 μM konsantrasyona sahip olan stok solüsyon hazırlanmıştır. Elde edilen bu solüsyon ışıktan korunacak şekilde alüminyum folyo ile sarılmış kullanılıncaya kadar buzdolabında $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır.

3.2.3. Tetrodotoksin

Kontrol amacıyla kullanılacak olan 1 mg TTX, (Alomone Labs.) steril liyofilize olarak alınmış ve 20 mM'lık sitrat tamponu (pH 4,8) içerisinde çözülerek 3132 μM konsantrasyonda bir stok solüsyon hazırlanmıştır. Bu stok solüsyon küçük miktarlara bölünmüş ve kullanılıncaya kadar -21°C 'de dondurularak saklanmıştır.

3.2.4. Deney Medyumlarının Hazırlanması

Farmakolojik ajanların hazırlanmasında kullanılan çözücülerin olası etkileri dikkate alınarak, ajanların hazırlandığı miktarlarda çözücü içeren medyumlar steril edilerek kontrol medyum olarak kullanılmıştır.

LTG'li deney medyum, stok ilaç çözeltisinden, medyum içerisinde 75 μM LTG konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu solüsyon 0,20 μm por çaplı selüloz asetat filtreden geçirilerek steril edilmiştir.

OXC'li deney medyum, stok ilaç solüsyonundan, medyum içerisinde 0,1 μM OXC olacak şekilde hazırlanmış ve sterilitiyi sağlamak amacıyla 0,20 μm por çaplı selüloz asetat filtreden geçirilmiştir.

TTX'li deney medyumları, stok çözeltiden, medyum içerisinde 600 nM ve 1 μ M konsantrasyonlarda olacak şekilde hazırlanmış ve diğer deney medyumlarında olduğu gibi filtre yardımıyla steril edilmiştir.

3.3. TOKSİSİTE

Deneylerde kullanılan farmakolojik ajanların, sıçan prostat kanseri hücre soyu olan Mat-LyLu hücreleri üzerinde herhangi bir toksik etkisinin bulunup bulunmadığını tespit edebilmek amacıyla, 35 mm çaplı steril petrilerin her birine 3×10^4 hücre ekilmiştir. Hücreler ekildikten sonraki 24. ve 48. saatlerde mikroskopta kontrol edilmiş ve kontrol grubundaki petrilere ajanların hazırlandığı konsantrasyonlarda DMSO içeren kontrol medyum, deney petrilere ise, 3.2.3'te açıklandığı gibi hazırlanmış, belirlenen dozlarda ilaç içeren deney medyumları ilave edilmiştir. Hücrelerin ekilmesinden 72 saat sonra, petrilere bulunan medyum çıkarılmış, 0,8 ml medyum ile 0,2 ml %0,4'lük Tripan mavisi eklenerek etüvde 10 dk boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra petrilere Tripan mavisi içeren medyum da çıkarılarak, taze medyum konmuştur. İnvert mikroskopta, 40x objektifle petri başına 40 mikroskop alanında canlı ve ölü olarak belirlenen hücreler sayılarak LTG ve OXC'nin toksik etkisi tespit edilmiştir. Deneyler üç paralel olarak yürütülmüş ve üç kez de tekrarlanmıştır.

3.4. HÜCRE KİNETİĞİ PARAMETRELERİ

3.4.1. Hücre Proliferasyonu

Mat-LyLu hücreleri, 35 mm'lik steril petri kaplarına 3×10^4 hücre/petri olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler ekildikten 24 saat sonra, kontrol petrilere ajanların hazırlandığı oranda DMSO içeren kontrol medyum, deney petrilere belirlenen dozda ilaç bulunduran deney medyumları konulmuştur. LTG ve OXC'nin hücre proliferasyonuna etkilerini belirleyebilmek amacıyla, deney medyumlarının ilave edilmesinden sonraki 24. ve 48. saatlerde kolorimetrik 3 - (4,5-Dimetiltiazol -2yl) – 2,5 – Difenil tetrazolyum bromid (MTT) yöntemi ile spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir (Mossman 1983'ten değiştirilerek). Belirtilen saatlerde petrilere medyumlar çıkartılmış ve yerine 0,8 ml medyum, 0,2 ml MTT (5 mg/ml, Sigma) solüsyonu ilave edilmiştir. Karanlıkta 5 saat süresince ve 37°C'de inkübe edildikten sonra, petrilere bulunan MTT'li medyum

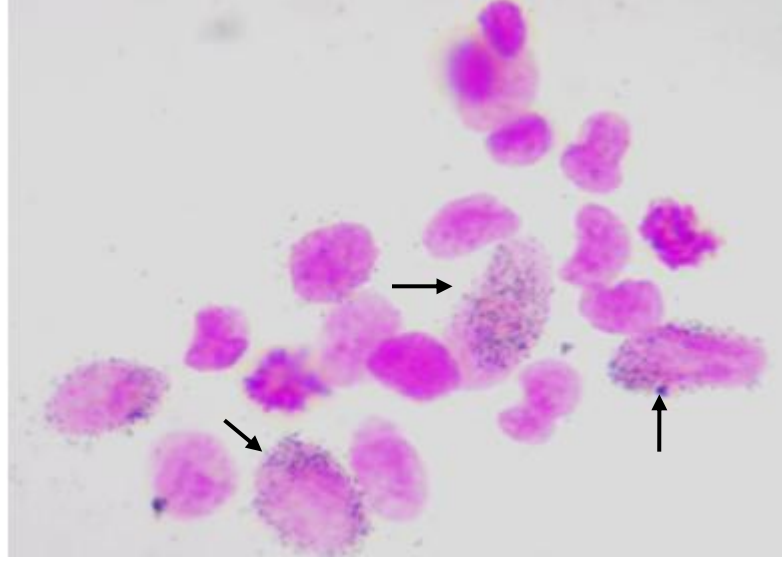
uzaklaştırılmış ve DMSO eklenerek, oluşan formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır. Spektrofotometrede (Shimadzu, Japonya) 570 nm dalga boyunda canlı hücreler tarafından oluşturulan boya absorbansı ölçümleri yapılmıştır. Deneyler üç paralel olarak yürütülmüş ve üç kez de tekrarlanmıştır.

3.4.2. İşaretlenme İndeksi (LI)

LTG ve OXC'nin, Mat-LyLu hücrelerinin DNA sentezi üzerindeki etkisini belirleyebilmek için trityumlu timidin (^3H -Timidin, ^3H -TdR) ile otoradyografi yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, 12 kuyucuklu pleytlerin her kuyucuğuna steril lameller yerleştirilmiş ve her lamele 1×10^4 hücre ekilmiştir. Hücreler ekildikten 24 saat sonra, kontrol kuyucuklarına ajanların hazırlandığı oranda DMSO içeren kontrol medyum, deney petrilere ise belirlenen dozlarda LTG, OXC bulunduran deney medyumları uygulanmıştır. İlk medyum değişiminden sonraki 24. ve 48. saatlerde medyumlar çıkarılmış ve $5 \mu\text{Ci/ml}$ ^3H -timidin (^3H -TdR, Amersham, 185 MBq/5 mCi) içeren medyum ilave edilerek 37°C etüv içerisinde 20 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 1:3 oranında hazırlanmış asetik asit-etanol karışımı ile 10 dakika fikse edilmiş ve %70 etanol ile 3 defa 5'er dakika yıkama yapılmıştır. Ardından hücreler üst tarafta kalacak şekilde lameller lamlara yapıştırılarak preparat haline getirilmiştir. DNA'ya bağlanmamış ^3H -Timidin'i uzaklaştırmak amacıyla taze olarak hazırlanan ve $+4^\circ\text{C}$ 'ye soğutulmuş %2'lik perklorik asit ile, iki kez, 30'ar dakika hidroliz edilen preparatlar, distile su ile iyice çalkalanmıştır. Preparatlar bu işlemin ardından Feulgen yöntemi ile boyanmıştır. Bu yöntem için, preparatlar oda sıcaklığındaki 5 N HCl içerisinde 1 saat bırakılarak hidroliz edilmiş ve 1 saat süre ile Schiff ayracında tutulduktan sonra yıkama solüsyonundan geçirilmiştir. Otoradyografi yöntemi uygulanmak üzere preparatlar %50 oranında sulandırılmış Hypercoat EM-1 (Amersham, İngiltere) emülsiyonu ile kaplanmıştır. Buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ 'de ışık almayacak şekilde saklanan otoradyogramlar, 8 günlük ekspozisyon süresinin sonunda, Kodak D19b developeri ile banyo edilmiştir. Her preparattan ortalama 1000 hücre sayılarak, her grup için toplam 3000 hücrede işaretlenmiş yani damgalı olan hücrelerin sayısı belirlenmiştir (Şekil 3.4.2.1). Elde edilen değerler aşağıdaki 3.4.2.1 numaralı formülde yerine konularak işaretlenme indeksi (LI) değerleri (%) tespit edilmiştir (Özalpan, 2001).

$$\text{LI} = (\text{Damgalı hücre sayısı} / \text{Toplam hücre sayısı}) \times 100$$

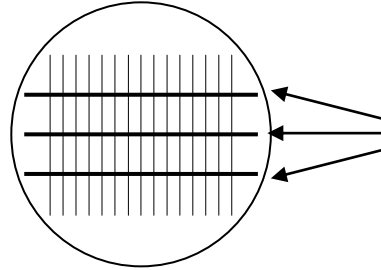
(3.4.2.1)



Şekil 3.4.2.1. Yüksek metastatik Mat-LyLu hücre soyunda DNA sentezi yapan hücreler (→ sentez yapan damgalı hücreleri göstermektedir).

3.5. HÜCRE HAREKETİ (MOTİLİTE/MİGRASYON)

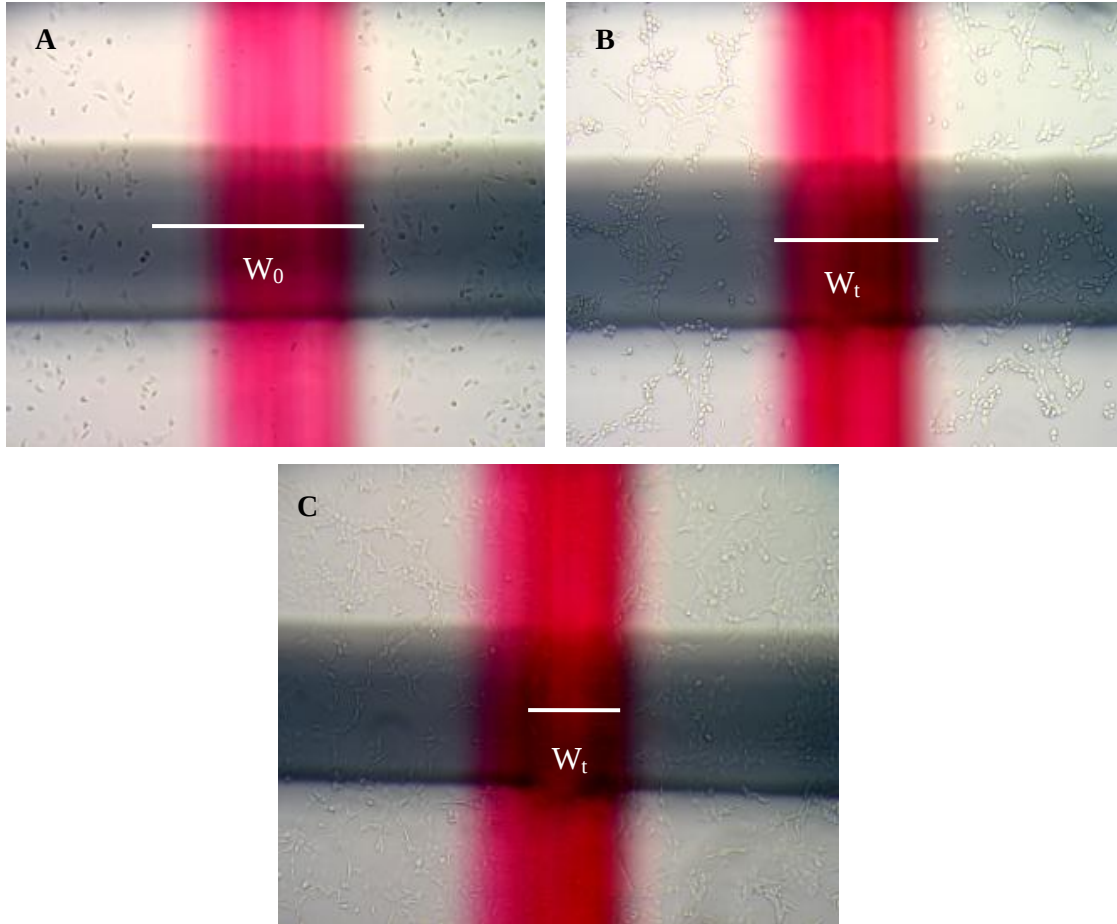
Farmakolojik ajan olarak kullanılan LTG ve OXC'nin, güçlü metastatik Mat-LyLu hücrelerinin metastaz yeteneklerinin belirteci olan lateral hareket üzerindeki etkilerini saptayabilmek amacıyla 35 mm'lik steril petri kaplarının her birinin içerisine 15×10^4 hücre ekilmiştir. Hücre ekimi yapılmadan önce petrilerin alt yüzüne cam kalemiyle birbirine paralel 15 adet çizgi, bu çizgilere dik ve yine birbirine paralel olacak şekilde 3 çizgi çizilmiş (Şekil 3.5.1) ve daha sonra hücrelerin ekimi yapılmıştır.



Şekil 3.5.1. Motilite indeksini belirlemek için kullanılan petrinin alt yüzüne yapılan çizim.

Hücrelerin ekiminden 24 saat sonra, birbirine paralel yönde uzanan üç çizgi hizasındaki hücreler steril bir pipet ucu yardımıyla çıkarılarak, bu alandaki hücreler ortadan kaldırılmış ve bir yara bölgesi oluşturulmuştur. Çizgilerin kesiştikleri noktalardaki yara genişlikleri,

invert mikroskopta mikrometrik oküler ile ölçülerek 0. saat (W_0) değerleri olarak kaydedilmiştir. Ölçümleri takiben kontrol petrilere ajanların hazırlandığı oranda DMSO içeren kontrol medyumunu, deney petrilere belirlenen dozda ilaç bulunduran deney medyumları uygulanmıştır. Daha sonra 24. ve 48. saatlerde yara genişlikleri (W_t) tekrar ölçülerek, medyumlar değiştirilmiştir (Şekil 3.5.2).



Şekil 3.5.2. Mat-LyLu hücrelerinde lateral hücre hareketi (migrasyon) A: 0. saat, B: 24. saat, C: 48. saat.

Elde edilen değerler aşağıdaki 3.5.1 numaralı formülde yerine konularak hücrelerin hareket ettikleri mesafeyi ifade eden motilite indeksi (MoI) hesaplanmıştır (Fraser ve diğ., 2003). Deneyler üç paralel olarak yürütülmüş ve üç kez de tekrarlanmıştır.

$$MoI = 1 - (W_t / W_0) \quad (3.5.1)$$

W_0 : 0. saatteki yara genişliği

W_t : 24. ve 48. saatlerdeki yara genişlikleri

3.6. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Deneylerden elde edilen veriler, grupların aritmetik ortalaması ve her bir ortalama değerin standart hatası ($\pm SH$) şeklinde verilmiştir. Gruplar arasındaki farkların anlamlı olup olmadığı, Excel (Office 2003) programında t-testi ve iki oranın karşılaştırılması ile ilgili testler kullanılarak değerlendirilmiştir (Zar 1999, Özdemir 2005). Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

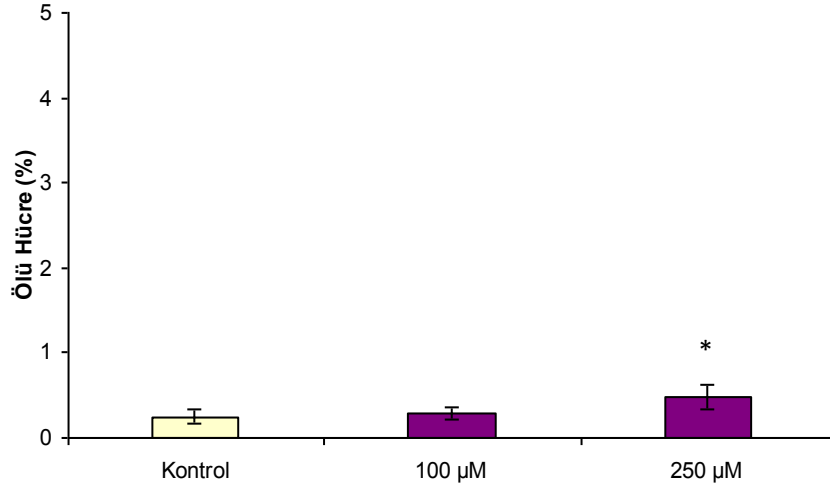
4. BULGULAR

4.1. LAMOTRİJİN

Çalışmalarda kullandığımız farmakolojik ajanlardan LTG'nin, Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik özelliğe sahip Mat-LyLu hücrelerinin toksisitesi, proliferasyon ve işaretlenme indeksi gibi hücre kinetiği parametreleri ile hücre hareketi üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, Bölüm 3.2.4'te açıklandığı gibi, konsantrasyonu 75 μ M olacak şekilde hazırlanmış LTG içeren medyumlar, 24 ve 48 saat sürelerle deney petrilere uygulanmıştır.

4.1.1 Toksisite

LTG'nin, Mat-LyLu hücreleri üzerinde toksik etki göstermeyen dozunu saptayabilmek amacıyla, tripan mavisi kullanılarak toksisite testi yapılmıştır. 100 μ M ve 250 μ M olmak üzere iki farklı dozda uygulama yapılmış ve bunlardan 250 μ M konsantrasyondaki LTG'nin hücreler üzerinde toksik etkisinin bulunduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1.1.1). Çalışmadaki temel hedefimiz proliferasyonu değiştirmeksizin, migrasyonu etkileyen doz ile çalışmak olduğundan ve ön deneylerde 100 μ M LTG, hücrelerin proliferasyonu üzerinde az da olsa bir etki gösterdiğinden deneyler 75 μ M LTG kullanılarak yürütülmüştür.



Şekil 4.1.1.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin farklı konsantrasyonlarda uygulanmasıyla elde edilen ölü hücre yüzdeleri ($\pm$ SH).

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark ($p < 0,05$).

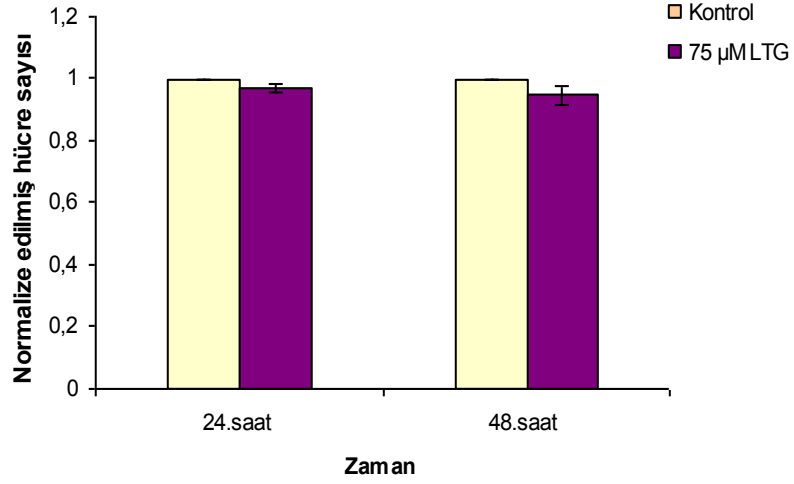
4.1.2. Hücre Proliferasyonu

Hücre kinetiği parametrelerinden olan proliferasyon üzerindeki olası bir etkiyi belirlemek amacıyla, Mat-LyLu hücrelerine 75 µM LTG uygulanarak 24 ve 48 saat sonraki canlı hücre sayısı belirlenmiştir. Bunun için, spektrofotometrik MTT yöntemi kullanılarak, ölçümler sonucu elde edilen absorbans değerleri normalize edilmiş ve canlı hücre sayıları ile her grupta meydana gelen inhibisyon oranları saptanmıştır.

LTG'nin saptanan konsantrasyonda Mat-LyLu hücrelerine uygulanması sonucunda elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları Tablo 4.1.2.1'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak oluşturulan, normalize edilmiş hücre sayılarının zamana göre grafiği Şekil 4.1.2.1'de gösterilmektedir. Normalize edilmiş hücre sayıları kontrol grubunda 100 kabul edilerek, LTG uygulamasının deney gruplarında 24. ve 48. saatlerde oluşturduğu inhibisyon oranları da hesaplanmıştır (Tablo 4.1.2.1). Elde edilen verilere göre 24. saatte canlı hücre sayısı 0,97 olarak saptanmıştır. LTG'nin 48 saat süreyle hücrelere uygulanmasının sonucunda canlı hücre sayısında hafif bir azalma görülerek 0,95 olduğu kaydedilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, 75 µM LTG'nin hem 24 hem de 48. saatte hücre proliferasyonu üzerinde istatistik bakımdan anlamlı bir etki oluşturmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır.

Tablo 4.1.2.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH) ve inhibisyon (%) oranları.

	Normalize edilmiş hücre sayısı		İnhibisyon (%)	
	24. saat	48. Saat	24. saat	48. Saat
Kontrol	1	1	-	-
75 μM LTG	0,97 $\pm$ 0,01	0,95 $\pm$ 0,02	3,2	5,4



Şekil 4.1.2.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH).

4.1.3. İşaretlenme İndeksi (LI)

Yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin 75 μ M konsantrasyonda uygulanmasıyla, söz konusu antiepileptik ajanın hücrelerin DNA sentez yüzdeleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla ^3H -TdR kullanılarak, Bölüm 3.4.2'de anlatıldığı gibi preparatlar hazırlanmış ardından damgalı ve damgasız hücreler sayılarak işaretlenme indeksi (%) hesaplanmıştır.

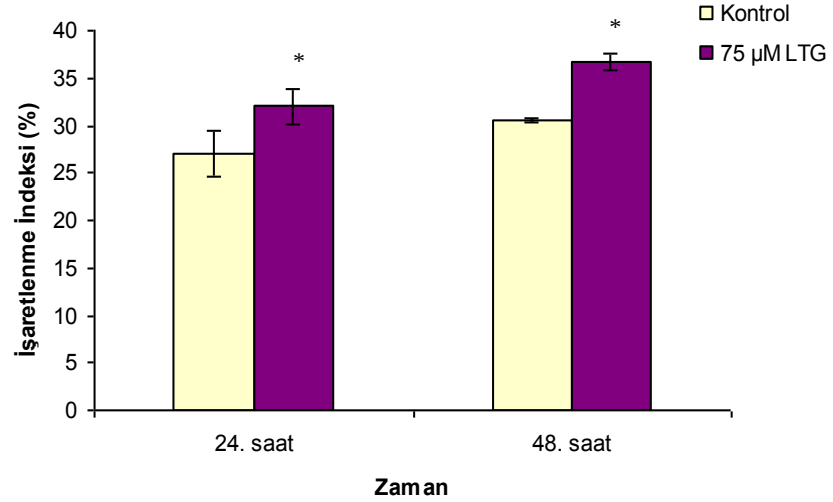
75 μ M LTG uygulanması sonucunda elde edilen işaretlenme indeksi değerleri Tablo 4.1.3.1'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak oluşturulmuş kontrol ve deney grubuna ait işaretlenme indeksi değerlerinin zamana göre grafiği de Şekil 4.1.3.2'de gösterilmiştir.

Mat-LyLu hücrelerinin işaretlenme indeksi 24. saatte kontrol grubunda % 27,03 iken, 75 μ M LTG'nin uygulandığı deney grubunda % 32,05 olarak belirlenmiştir. 48. saatte işaretlenme indeks değerleri artış göstererek kontrol grubunda % 30,59, deney grubunda ise, % 36,69 olduğu saptanmıştır. Mat-LyLu hücreleri DNA sentez yüzdelерinin 75 μ M LTG'nin uygulanmasıyla kontrol grubuna oranla arttığı ve bu artışın istatistiksel bakımdan hem 24. hem de 48. saatte anlamlı ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.1.3.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).

	Mat-LyLu	
	24. saat	48. saat
Kontrol	27,03 $\pm$ 2,32	30,59 $\pm$ 0,18
75 μM LTG	32,05 $\pm$ 1,87*	36,69 $\pm$ 0,92*

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark.



Şekil 4.1.3.2. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark ($p<0,05$).

4.1.4. Hücre Hareketi (Motilite/Migrasyon)

Antiepileptik bir ajan olan LTG'nin, Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik özellikteki Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketi yani migrasyonu üzerindeki etkilerini belirlemek üzere, 75 μ M LTG, hücrelere 24 ve 48 saat sürelerle uygulanmıştır. Deney medyumunun uygulaması yapılmadan önce (0. saat; W_0) ve sonraki (24. ve 48. saat; W_t) yara genişlikleri, invert mikroskopta mikrometrik oküler ile ölçülmüştür. Elde edilen verilerden 3.5.1 numaralı formül ile kontrol ve deney gruplarının ortalama motilite indeks değerleri tespit edilmiştir.

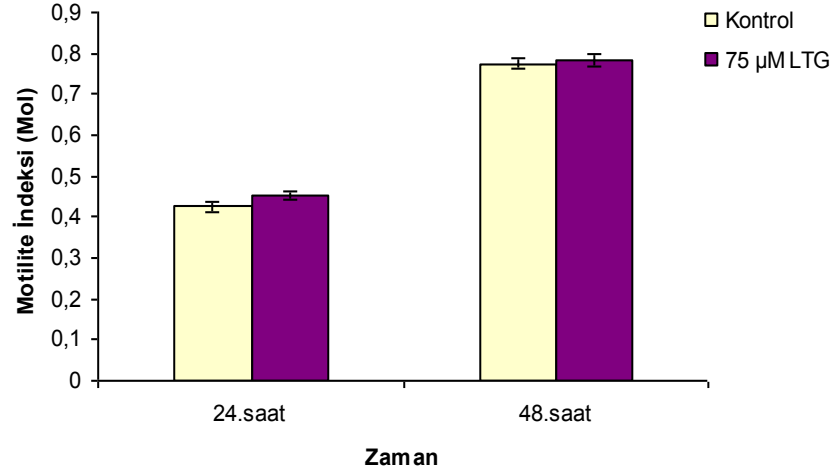
Mat-LyLu hücrelerine LTG uygulanmasından 24 ve 48 saat sonraki motilite indeks ortalamaları ile kontrol grubuna göre deney gruplarının motilite indekslerinde meydana gelen değişim (%) oranları Tablo 4.1.4.1'de gösterilmiştir. 75 μ M LTG uygulanması sonucu elde edilen motilite indekslerinin zamana göre grafiği de Şekil 4.1.4.2'de verilmiştir. Elde edilen verilere göre, Mat-LyLu hücrelerinin hareket ettikleri mesafe, 24. saatte kontrol grubunda 0,43 iken, LTG uygulamasıyla artarak 0,45 olmuştur. Hücrelerin motilite indeksi, 48. saatte kontrol grubunda 0,77 olarak ölçülürken, LTG'nin uygulandığı deney grubunda 0,78'e arttığı kaydedilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde, 75 μ M LTG'nin, Mat-LyLu hücrelerinin motilite indeksini, her iki deney saatinde de kontrol grubuna göre arttırdığı ancak, bu artışın istatistik bakımdan anlamlı olmadığı ($p>0,05$) görülmüştür.

Tablo 4.1.4.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksi ($\pm$ SH) ve kontrol grubuna oranla deney gruplarının motilite indekslerinde tespit edilen % değişim

	Motilite İndeksi (MoI) ^a		Motilite indeksindeki değişim (%) ^b	
	24. saat	48. Saat	24. saat	48. Saat
Kontrol	0,43 $\pm$ 0,01	0,77 $\pm$ 0,01	-	-
75 μM LTG	0,45 $\pm$ 0,01	0,78 $\pm$ 0,01	- 4,6 (↑)	- 1,2 (↑)

a: $MoI = 1 - (W_t / W_0)$

b: (↑): Kontrol grubuna göre motilite indeksinde artış.

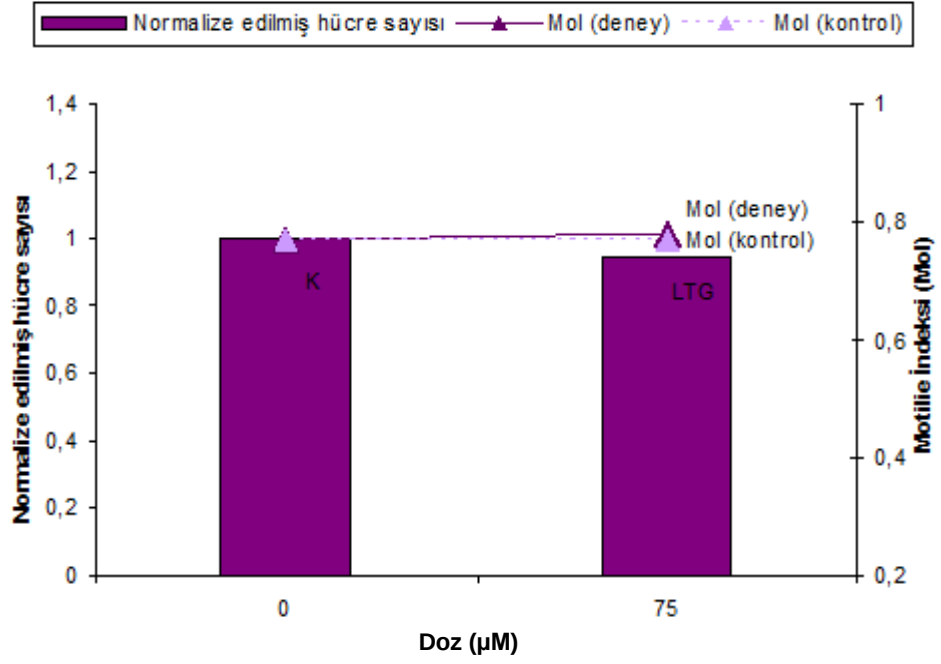


Şekil 4.1.4.2. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksleri (Mol) ($\pm$ SH).

4.1.5. Lamotrijin'in Genel Değerlendirmesi

Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik özelliğe sahip Mat-LyLu hücreleri üzerine, antiepileptik bir ajan olan LTG, 24 ve 48 saat sürelerle 75 μ M konsantrasyonda uygulanmış ve bu ajanın; hücreler üzerindeki toksisitesi, proliferasyonu ile işaretlenme indeksi gibi kinetik parametreleri ve hücrelerin lateral hareketi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Mat-LyLu hücreleri üzerine toksik etki göstermeyen 75 μ M LTG, hem 24 hem de 48 saat sürelerle uygulanmış ve bu dozun hücrelerin proliferasyonu üzerinde anlamlı bir etki meydana getirmediği ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Aynı doz LTG'nin Mat-LyLu hücrelerine uygulanması sonucu, 24. ve 48. saatlerin her ikisinde de kontrol grubuna oranla, deney grubundaki hücrelerin DNA sentez yüzdelерinin arttığı ve bu artışın istatistik bakımdan anlamlı olduğu ($p<0,05$) saptanmıştır. LTG'nin Mat-LyLu hücreleri üzerine belirtilen konsantrasyonda uygulanması sonucunda hücrelerin lateral hareketinde meydana gelen değişiklik yara iyileşme analizi ile incelenmiştir. Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonu üzerinde etki meydana getirmeyen 75 μ M LTG'nin hem 24 hem de 48 saat süre ile uygulanması sonucunda hücrelerin lateral hareketi üzerinde de anlamlı bir etki oluşturmadığı ve dolayısıyla hücrelerin proliferasyonları ile motiliteleri arasında bir paralellik bulunduğu (Şekil 4.1.5.1) belirlenmiştir.



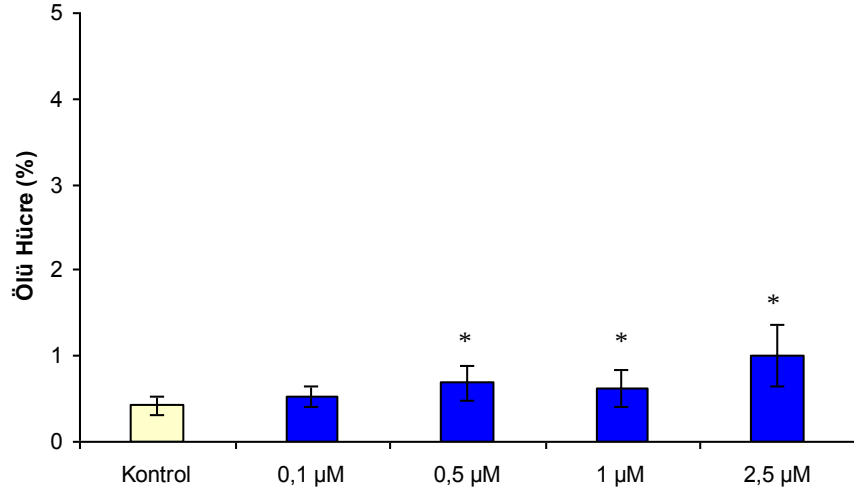
Şekil 4.1.5.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine LTG'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla 48. saatte tespit edilen normalize edilmiş hücre sayısı ve motilite indeksi (MoI) arasındaki ilişki.

4.2. OKSKARBAZEPİN

Yeni nesil antiepileptikler grubundan olan OXC'nin, Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik özelliğe sahip Mat-LyLu hücrelerinin toksisitesi, proliferasyon ve işaretlenme indeksi gibi hücre kinetiği parametreleri ile hücre hareketi üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, Bölüm 3.2.4'te açıklandığı gibi, konsantrasyonu 0,1 µM olacak şekilde hazırlanmış OXC içeren medyumlar, 24 ve 48 saat sürelerle deney petrilere uygulanmıştır.

4.2.1. Toksisite

OXC'nin Mat-LyLu hücrelerine toksik olmayan dozunun saptanması için tripan mavisi yöntemi ile toksisite testi yapılmıştır. OXC, Mat-LyLu hücreleri üzerine 0,1 µM; 0,5 µM; 1 µM ve 2,5 µM dozlarında uygulanmış ve bunlardan 0,5 µM, 1 µM ve 2,5 µM konsantrasyonlarındaki OXC'nin hücreler üzerinde toksik etki meydana getirdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.2.1.1.). Deneylerde Mat-LyLu hücreleri üzerinde toksik etki göstermediği saptanan 0,1 µM konsantrasyondaki OXC kullanılmıştır.



Şekil 4.2.1.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin farklı konsantrasyonlarda uygulanmasıyla elde edilen ölü hücre yüzdeleri ($\pm$ SH).

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark ($p < 0,05$).

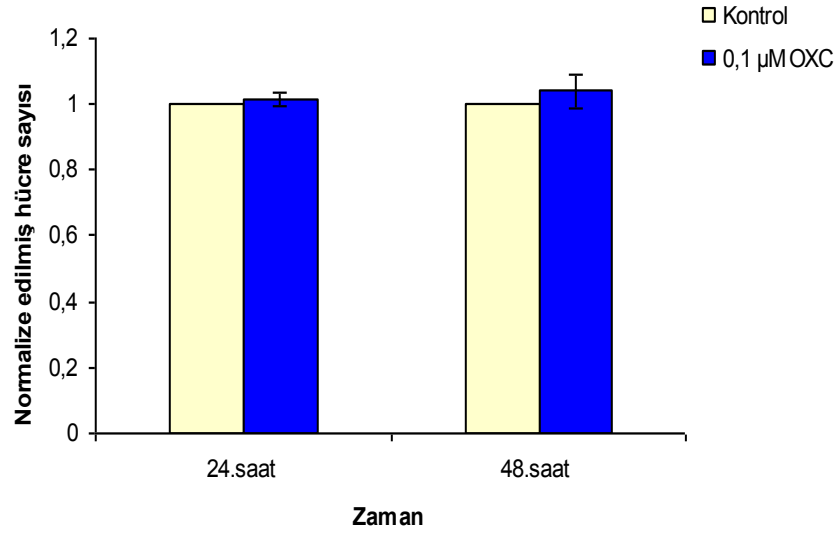
4.2.2. Hücre Proliferasyonu

Hücrelerin proliferasyonu üzerindeki etkiyi belirlemek üzere, Mat-LyLu hücrelerine 0,1 µM OXC uygulanarak 24 ve 48 saat sonraki canlı hücre sayısı saptanmıştır. Bunun için, spektrofotometrik MTT yöntemi kullanılarak, ölçümler sonucu elde edilen absorbans değerleri normalize edilmiş ve canlı hücre sayıları ile her grupta meydana gelen inhibisyon (%) oranları belirlenmiştir.

Mat-LyLu hücreleri üzerine, OXC'nin belirtilen konsantrasyonda uygulanması sonucunda elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları Tablo 4.2.2.1'de verilmiş ve bu verilerin kullanılması ile normalize edilmiş hücre sayılarının zamana göre çizilen grafiği ise, Şekil 4.2.2.1'de gösterilmiştir. Normalize edilmiş hücre sayıları kontrol grubunda 100 kabul edilerek, 24. ve 48. saatlerde OXC uygulamasının oluşturduğu inhibisyon oranları da hesaplanmıştır (Tablo 4.2.2.1). Elde edilen verilere göre 24. saatte canlı hücre sayısı 1,01 ile kontrol grubuna yakın olduğu gözlemlenmiştir. OXC'nin 48 saat süreyle uygulanması sonucunda ise, hücre proliferasyonunun kontrol grubuna göre biraz daha artarak 1,04 olduğu saptanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde; 0,1 µM konsantrasyonda OXC uygulamasının hem 24. hem de hem de 48. saatte hücre proliferasyonu üzerine istatistik bakımdan anlamlı bir etki oluşturmadığı ($p > 0,05$) tespit edilmiştir.

Tablo 4.2.2.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH) ve inhibisyon (%) oranları.

	Normalize edilmiş hücre sayısı		İnhibisyon (%)	
	24. saat	48. Saat	24. saat	48. Saat
Kontrol	1	1	-	-
0,1 μM OXC	1,01 $\pm$ 0,02	1,04 $\pm$ 0,05	- 1,4	- 4



Şekil 4.2.2.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla elde edilen normalize edilmiş hücre sayıları ($\pm$ SH).

4.2.3 İşaretlenme İndeksi (LI)

Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin 0,1 μ M konsantrasyonda uygulanmasıyla, söz konusu antiepileptik ajanın hücrelerin DNA sentez yüzdeleri üzerindeki etkisini incelemek amacıyla ^3H -TdR kullanılarak, Bölüm 3.4.2'de anlatıldığı gibi preparatlar hazırlanmış, damgalı ve damgasız hücreler sayılarak işaretlenme indeksi (%) hesaplanmıştır.

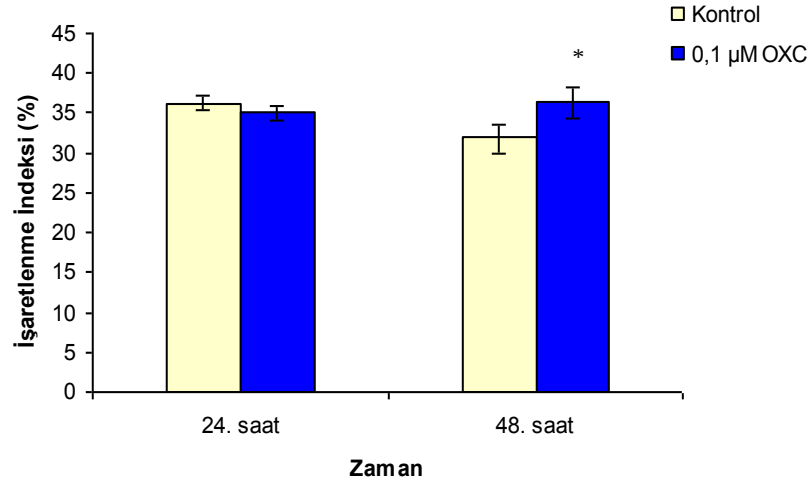
0,1 μ M OXC uygulanması sonucunda elde edilen işaretlenme indeksi değerleri Tablo 4.2.3.1'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak oluşturulan kontrol ve deney grubuna ait işaretlenme indeksi değerlerinin zamana göre grafiği de Şekil 4.2.3.1'de gösterilmiştir.

Mat-LyLu hücrelerinin işaretlenme indeksi 24. saatte kontrol grubunda % 36,17 iken, 0,1 μ M OXC'nin uygulandığı deney grubunda % 35 olarak belirlenmiştir. 48. saatte ise kontrol grubunda % 31,92 olan işaretlenme indeksi OXC grubunda artış göstererek %36,39'a ulaşmıştır. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; istatistik bakımdan sadece 48 saatteki DNA sentez yüzdeleri arasında anlamlı ($p<0,05$) fark olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.2.3.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).

	Mat-LyLu	
	24. saat	48. saat
Kontrol	36,17 $\pm$ 0,96	31,92 $\pm$ 1,65
0,1 μM OXC	35,00 $\pm$ 0,91	36,39 $\pm$ 1,94*

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark.



Şekil 4.2.3.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen işaretlenme indeksi (%) değerleri ($\pm$ SH).

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark ($p<0,05$).

4.2.4 Hücre Hareketi (Motilite/Migrasyon)

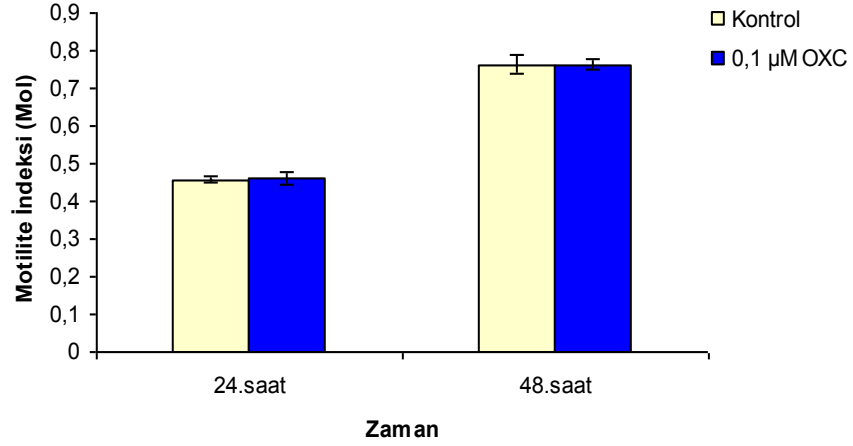
Antiepileptik bir ajan olan OXC'nin, Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik özellikteki Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketi yani migrasyonu üzerindeki etkilerini belirlemek üzere, 0,1 μM OXC, hücrelere 24 ve 48 saat sürelerle uygulanmıştır. Deney medyumunu uygulanmadan önce (0. saat; W_0) ve sonraki (24. ve 48. saat; W_t) yara genişlikleri, invert mikroskopta mikrometrik oküler ile ölçülmüştür. Elde edilen verilerden 3.5.1 numaralı formül ile kontrol ve deney gruplarının ortalama motilite indeks değerleri tespit edilmiştir.

OXC'nin Mat-LyLu hücrelerine uygulanmasından 24 ve 48 saat sonraki motilite indeks ortalamaları ile kontrol grubuna göre deney gruplarının motilite indekslerinde meydana gelen değişim (%) oranları Tablo 4.2.4.1'de gösterilmiştir. OXC uygulanması sonucu elde edilen motilite indekslerinin zamana göre grafiği de Şekil 4.2.4.1'de verilmiştir. Mat-LyLu hücrelerinin hareket ettikleri mesafe, 24. saatte kontrol grubunda 0,46 iken, OXC uygulaması sonucu herhangi bir değişim kaydedilmeksizin yine 0,46 olduğu gözlenmiştir. Hücrelerin motilite indeksi, 48. saatte kontrol grubunda 0,76 olarak ölçülürken, OXC'nin uygulandığı deney grubunda da 0,76 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, 0,1 μM OXC'nin, Mat-LyLu hücrelerinin motilite indeksi üzerinde her iki deney saatinde de kontrol grubuna oranla farklılık göstermediği ve sonuçların istatistik bakımdan anlamlı olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir.

Tablo 4.2.4.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksi ($\pm\text{SH}$) ve kontrol grubuna oranla deney gruplarının motilite indekslerinde tespit edilen % değişim

	Motilite İndeksi (MoI) ^a		Motilite indeksindeki değişim (%) ^b	
	24. saat	48. Saat	24. saat	48. Saat
Kontrol	0,46 $\pm$ 0,01	0,76 $\pm$ 0,02	-	-
0,1 μM OXC	0,46 $\pm$ 0,02	0,76 $\pm$ 0,01	-	-

a: $\text{MoI} = 1 - (W_t / W_0)$

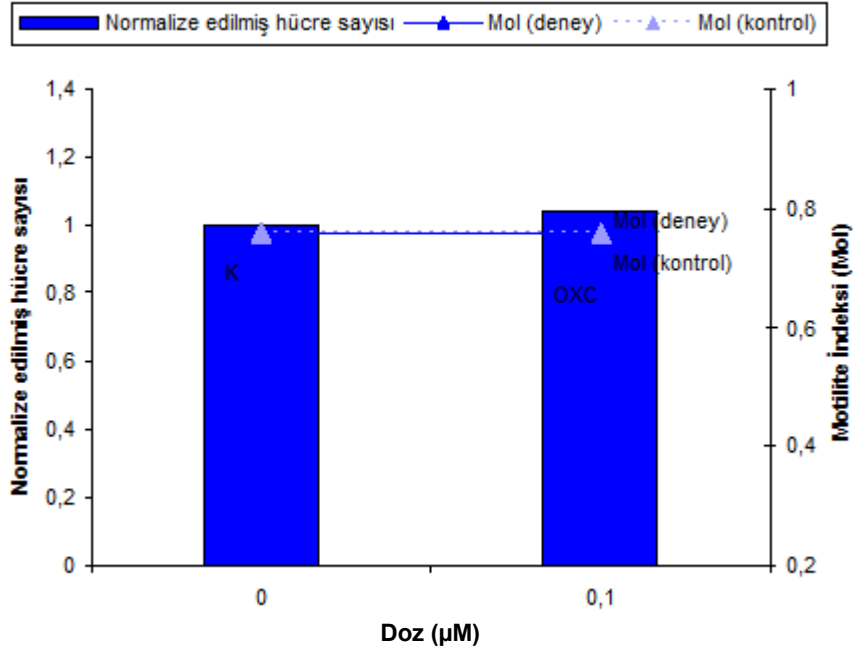


Şekil 4.2.4.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksleri (MoI) ($\pm$ SH).

4.2.5. Okskarbazepin'in Genel Değerlendirmesi

Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik özelliğe sahip Mat-LyLu hücreleri üzerine, antiepileptik bir ajan olan OXC, 0,1 μ M konsantrasyonda 24 ve 48 saat sürelerle uygulanmış ve bu ajanın; hücrelerin toksisitesi, proliferasyonu ve işaretlenme indeksi gibi kinetik parametreleri ile hücrelerin lateral hareketi üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Mat-LyLu hücreleri üzerine, toksik etki göstermeyen 0,1 μ M konsantrasyondaki OXC, hem 24 hem de 48 saat sürelerle uygulanmış ve bu dozun hücrelerin proliferasyonu üzerinde anlamlı bir etki meydana getirmediği ($p>0,05$) tespit edilmiştir. OXC'nin, Mat-LyLu hücrelerinin DNA sentez yüzdeleri üzerinde sadece 48. saatte kontrol grubuna göre deney grubundaki etkinin anlamlı ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir. Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonu üzerinde anlamlı bir etki meydana getirmeyen 0,1 μ M OXC'nin, 24 ve 48 saat sürelerle uygulanması sonucunda hücrelerin motilite indeksi üzerinde de istatistik bakımdan anlamlı bir etki oluşturmadığı ($p>0,05$) saptanmıştır (Şekil 4.2.5.1).



Şekil 4.2.5.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine OXC'nin belirlenen konsantrasyonda uygulanmasıyla 48. saatte tespit edilen normalize edilmiş hücre sayısı ve motilite indeksi (MoI) arasındaki ilişki.

4.3. TETRODOTOKSİN

Sodyum kanalına sıkı bir şekilde bağlanarak kanalı bloke eden TTX'in 600 nM, 1µM ve 6µM konsantrasyonlarının; Dunning modeli sıçan prostat kanser hücrelerinden yüksek metastatik özellikteki Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonlarını inhibe edici veya toksik bir etkisine rastlanmadığı daha önce yapılan çalışmalarla saptanmıştır (Grimes ve diğ., 1995; Recatala., 1999; Fraser ve diğ., 2000; Fraser ve diğ., 2003). Ayrıca, hücrelerin VGSC'lerinin belirtilen konsantrasyonlardaki TTX ile bloklanması sonucunda, Mat-LyLu hücrelerinin hareket, motilite/migrasyon yeteneklerinin azaldığı farklı yöntemlerle ortaya konmuş ve bu çalışmalar Bölüm 2.3.1'de ayrıntılı olarak verilmiştir. Çalışmamızda kullanılan yeni nesil antiepileptiklerden OXC ve LTG'nin sonuçlarının değerlendirilmesinde karşılaştırma yapmak amacıyla, TTX'in, Mat-LyLu hücrelerinin sadece lateral hareketi (migrasyonu) üzerindeki etkileri bir kez daha incelenmiştir. Bu amaçla Bölüm 3.2.4'te anlatıldığı şekilde, 600 nM ve 1 µM konsantrasyonlarda hazırlanmış olan TTX'li medyumlar, deney petrilere 24 ila 48 saat sürelerle uygulanmış, elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırılarak, tablo ile grafikler şekillendirilmiş ve yorumlanmıştır.

4.3.1. Hücre hareketi (Motilite/Migrasyon)

TTX'in, Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soylarından yüksek metastatik özellikteki Mat-LyLu hücrelerinin hareketi üzerindeki etkilerini belirlemek üzere, 600 nM ve 1 μ M TTX, hücrelere 24 ve 48 saat sürelerle uygulanmıştır. Deney medyumlarının uygulanmasından önceki (0. saat; W_0) ve sonraki (24. ve 48. saat; W_t) yara genişlikleri, invert mikroskopta mikrometrik oküler ile ölçülmüştür. Elde edilen verilerden 3.5.1 numaralı formül ile kontrol ve deney gruplarının ortalama motilite indeks değerleri tespit edilmiştir.

TTX'in Mat-LyLu hücreleri üzerine uygulanmasından 24 ve 48 saat sonraki motilite indeks ortalamaları ile kontrol grubuna göre deney gruplarının motilite indekslerinde meydana gelen değişim (%) oranları Tablo 4.3.1.1'de verilmiş olup, bu veriler ile motilite indekslerinin zamana göre grafiği de çizilmiştir (Şekil 4.3.1.1). Tablo ve grafikten Mat-LyLu hücrelerinin motilite indeks değerlerinin 24. saatte kontrol grubunda 0,40 olduğu görülmektedir. Elde edilen verilere göre hücrelerin motilite indeksi TTX uygulanmasıyla azalmış ve 24. saatte 600 nM TTX grubunda 0,36, 1 μ M TTX grubunda 0,35 olarak ölçülmüştür. TTX uygulamasına 48 saat süreyle devam edildiğinde, kontrol grubunda 0,71 olan motilite indeksinin 600 nM TTX grubunda 0,61'e, 1 μ M TTX grubunda ise, 0,59'a azaldığı gözlemlenmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, 600 nM ve 1 μ M TTX'in, Mat-LyLu hücrelerinin motilite indeksini, her iki deney saatinde de, kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı ($p < 0,05$) olarak azalttığı tespit edilmiştir.

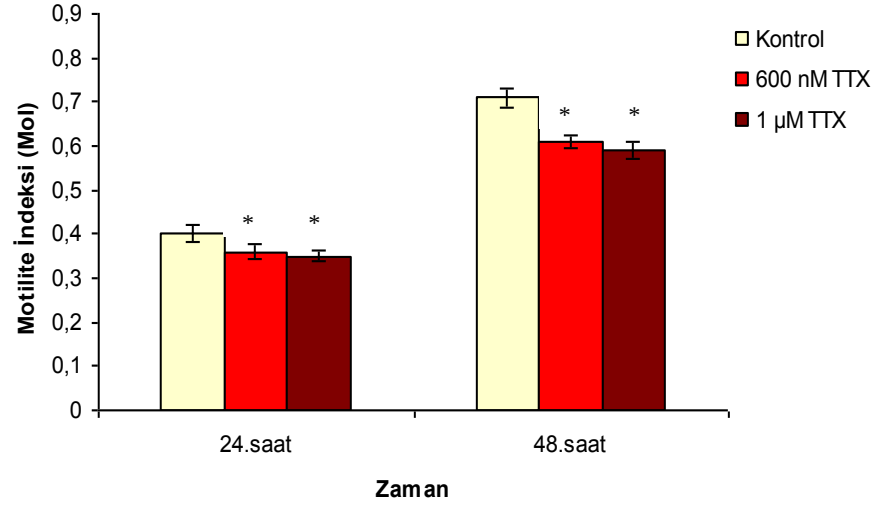
Tablo 4.3.1.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine TTX'in belirlenen konsantrasyonda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksi ($\pm$ SH) ve kontrol grubuna oranla deney gruplarının motilite indekslerinde tespit edilen % değişim

	Motilite İndeksi (MoI) ^a		Motilite indeksindeki değişim (%) ^b	
	24. saat	48. Saat	24. saat	48. Saat
Kontrol	0,40 $\pm$ 0,02	0,71 $\pm$ 0,02	-	-
600 nM TTX	0,36 $\pm$ 0,02*	0,61 $\pm$ 0,01*	10,00*(↓)	14,80*(↓)
1 μM TTX	0,35 $\pm$ 0,01*	0,59 $\pm$ 0,02*	12,50*(↓)	16,90*(↓)

a: MoI = 1 - (W_t / W_0)

b: (↓): Kontrol grubuna göre motilite indeksinde azalış.

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark ($p < 0,05$).



Şekil 4.3.1.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine TTX'in belirlenen konsantrasyonlarda uygulanması sonucu elde edilen motilite indeksleri (MoI) ($\pm$ SH).

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark ($p < 0,05$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

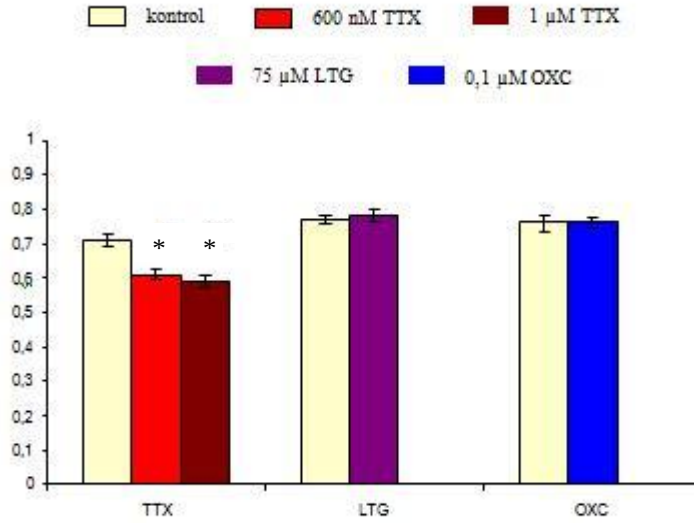
Kanser hücreleri üzerinde yapılan çeşitli araştırmalarda metastatik sürecin ortaya çıkışında ve ilerlemesinde voltaj kapılı iyon kanallarının (VGSC) rol oynadığı açıkça ortaya konmuş olup, halen konuya ilişkin ayrıntılı çalışmalar sürdürülmektedir. Prostat, meme, kolon, glioma gibi çeşitli kanser tiplerinde hücre proliferasyonu üzerinde ve metastatik sürecin ilerleyişinde VGSC'lerin katkısının bulunduğu pek çok çalışma ile gösterilmiştir (Laniado ve diğ., 1997; Anderson ve diğ., 2003; Preussat ve diğ., 2003; Fraser ve diğ., 2005; Fiske ve diğ., 2006). VGSC'lerin, metastatik sürecin gelişimi sırasında görülen bazı morfolojik ve fizyolojik hücresel davranış değişikliklerinin ortaya çıkmasına neden olduğu bilinirken, son yıllarda söz konusu kanalları bloklayan ya da indirgeyerek etki gösteren bazı ilaçların geliştirilmesi, kanser tedavisinde yeni ve etkin stratejilerin kazanılması bakımından oldukça önem taşımaktadır. VGSC'lerin prostat kanserinin metastatik potansiyelinde kuvvetlendirici bir role sahip olduğu ve kanalların bloklanmasıyla metastatik ilerlemenin baskılanabileceği hipotezi çerçevesinde planlanan çalışmamızda, Na^+ kanallarını bloke ederek etki gösteren, yeni nesil antiepileptik ajanlardan LTG ve OXC'nin, Dunning sıçan prostat tümör modeli yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin toksisitesi, proliferasyon ve işaretlenme indeksi gibi hücre kinetikleri üzerindeki etkilerini ortaya koymak ve bu ajanların, hücrelerin hareketi, dolayısıyla da VGSC'leri üzerindeki etkilerinin, spesifik bir VGSC blokeri olan TTX ile karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri üzerine, LTG'nin toksik etki oluşturmayan 75 μM dozu uygulanmış ve hücre kinetikleri ile hücrelerin lateral hareketi/migrasyonu üzerindeki etkileri araştırılmış ve aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. 75 μM LTG'nin, Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonu üzerinde etkili olmadığı,
2. LTG'nin Mat-LyLu hücrelerinin işaretlenme indeksini hem 24. hem de 48. saatte stimüle ettiği,

3. Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketi üzerinde LTG'nin bir etki göstermediği saptanmıştır.

75 μ M LTG'nin hücrelere 48 saat süreyle uygulanması sonucu elde edilen bulgulara göre, kullandığımız antiepileptik ajan; Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonu ve lateral hareketi üzerinde anlamlı bir etki meydana getirmemiş olup, bu sonuç, TTX'in hücrelerin motilitesi üzerinde gösterdiği inhibisyon ile karşılaştırıldığında da (Şekil 5.1) LTG'nin herhangi bir inhibe edici etkisinin bulunmadığını ortaya koymaktadır.



Şekil 5.1. Mat-LyLu hücreleri üzerine TTX, LTG ve OXC'nin belirlenen konsantrasyonlarda uygulanmasıyla 48. saatte tespit edilen lateral hareket ($\pm$ SH).

*: Kontrol grubuna göre istatistik bakımdan anlamlı fark ($p < 0,05$).

Literatürde LTG'nin, Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücrelerinden yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin kinetik parametreleri ya da migrasyonları üzerindeki etkisini araştıran *in vitro* veya *in vivo* bir çalışma bulunmadığı gibi, diğer kanser hücreleri üzerindeki etkilerini ortaya koyan bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarla, presinaptik ve postsinaptik olmak üzere etkisini iki farklı şekilde gösteren LTG'nin postsinaptik yol ile, diğer antikonvulsif sodyum kanal bloklayıcıları gibi nöronların eksitabilitesini azaltarak etkisini gerçekleştirdiği saptanmıştır (Wang ve diğ., 1996; Rogawski ve Löscher, 2004). Sıçan serebellar granül hücreleri kullanılarak "Whole cell

clamp” metoduyla gerçekleştirilen *in vitro* bir çalışmada, LTG’nin hücre içine doğru olan voltaj kapılı Na^+ akımlarını azalttığı ve denge durumundaki inaktivasyon eğrisinde negatif bir değişimi indüklediği gösterilmiştir (Zona ve Avoli, 1997). Kuo ve Lu (1997) tarafından yapılan araştırmada ise, sıçan hippocampal nöronlarında, LTG’nin hızlı inaktif durumdaki Na^+ kanallarına yavaşça bağlanarak buradaki Na^+ akımlarını potansiyel olarak inhibe edebildiği belirtilmektedir. Lamotrijin, gabapentin ve fenitoin’in striatal nöronlar üzerindeki etkilerinin elektrofizyolojik olarak incelendiği *in vitro* çalışmada antiepileptiklerin söz konusu hücrelerin elektrofizyolojik özelliklerini değiştirerek striatal nöronların uyarılabilirliğini azalttığı saptanmıştır (Calabresi ve diğ., 1999).

Sıçan neokortikal kesitlerinde glutamat birikmesinin inhibisyonuna dayanan, hayvan modelleriyle yürütülmüş birtakım çalışmalar LTG’nin anlamlı derecede nöroprotektif bir etkiye sahip olduğunu ileri sürmektedir (Shuaib ve diğ., 1995). Nöroprotektif dozun antikonvulsif terapide kullanılan doz ile benzerlik gösterdiği belirtilmektedir (Crumrine ve diğ., 1997). Ayrıca LTG’nin, Parkinson hastalığının ekstraprimidal yan etkilerinin tedavi edilmesinde de uygulamasının mevcut olduğu ve bu etkinin glutamat salınımının inhibisyonundan kaynaklı olabileceği Zipp ve diğ., (1993) tarafından bildirilmiştir. Bipolar rahatsızlıklarda, LTG’nin depresif fazların tekrarını azalttığı da öne sürülmektedir (Calbrese, 2000). Epilepsi hastalarında valproik aside kıyasla depresif dereceyi indirgediği belirlenmiştir. (Edwards ve diğ., 2001). Kronik epileptik sıçanların kullanılarak yürütüldüğü bir başka araştırmada fenitoin (100 μM), valproat (600 μM) ve lamotrijin (100 μM) deney prosedürüne göre hazırlanan kesitlere uygulanmış ve bu ajanların hippocampal nöronlardaki VGSC’lerin antikonvulsan farmakolojisi üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Kullanılan ajanların kontrol grubu ve epileptik gruptaki hayvanların Na^+ kanal amplitüdüne olan tonik inhibisyon etkileri gözlenerek, LTG’nin epileptik gruptakilerde ölçülen kanal amplitüdünde %64 oranında bir azalma ortaya çıkardığı ve bu azalmanın da LTG’nin, Na^+ kanalları üzerinde gösterdiği inhibisyon etkisinden kaynaklandığı tespit edilmiştir (Remy ve diğ., 2003). Lang ve diğ., (1993) N4TG1 fare nöroblastoma hücrelerinde var olduğu bilinen VGSC’ler üzerine karbamazepin, lamotrijin ve fenitoin’in etkileşimlerini incelemişler ve LTG için tonik inhibisyon gösteren IC_{50} dozunu 91 μM olarak saptamışlardır.

Sıçan beyin tipi IIA sodyum kanalı eksprese eden *Xenopus oocytes*'te ‘‘voltage clamp’’ metoduyla yürütülen başka bir çalışmada 31,9 μM dozdaki LTG'nin, -120 mV'luk potansiyelde herhangi bir bloklama etkisi görülmezken, -50 mV potansiyelde oldukça belirgin bir inhibisyon tespit edilmiştir (Yarov-Yarovoy ve diğ., 2001).

LTG'nin etkilerini ortaya koyan literatürdeki çalışmaların, *in vitro* olarak nöronlar, *in vivo* olarak ise, epilepsi ve parkinson gibi sinir sisteminden kökenlenen hastalıklara ilişkin olduğu belirlenmektedir. Yüksek metastatik prostat hücreleri ve LTG ile yürüttüğümüz bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar, literatürde LTG'nin nöronların VGSC'leri üzerindeki inhibe edici etkisinden farklılık göstermektedir. Bu durum, çalışmalarda farklı hücrelerin kullanılmış olmasından veya hücrelerdeki VGSC'lerin kanal izoformları arasındaki farklılıktan olabileceğini düşündürmektedir.

Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücre soyu olan yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri zerine, OXC'nin toksik etki oluşturmayan 0,1 μM dozu uygulanmış ve hücre kinetikleri ile hücrelerin lateral hareketi/migrasyonu üzerindeki etkileri araştırılmış ve elde edilen sonuçlara göre;

1. 0,1 μM OXC'nin, Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonu üzerinde etkili olmadığı,
2. OXC'nin Mat-LyLu hücrelerinin işaretlenme indeksi üzerinde, 24. saatte herhangi bir etki göstermediği, 48. saatte ise stimülasyona yol açtığı,
3. 0,1 μM OXC'nin, Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketi üzerine her iki deney saatinde de bir etki göstermediği saptanmıştır.

Yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerine, 0,1 μM OXC'nin uygulanması sonucunda kullandığımız antiepileptik ajanın hücrelerin proliferasyonu ile lateral hareketi üzerinde anlamlı bir etki meydana getirmediği ve bu sonucun TTX'in hücrelerin motilitesi üzerinde gösterdiği inhibisyon ile karşılaştırıldığında da, OXC'nin herhangi bir inhibe edici etkisinin bulunmadığını ortaya koymaktadır (şekil 5.1).

Literatürde, OXC'nin Dunning modeli sıçan prostat kanseri yüksek metastatik Mat-LyLu hücrelerinin kinetik parametrelerinin ya da migrasyonlarının üzerindeki etkisini araştıran *in vitro* ya da *in vivo* bir çalışma bulunamamıştır. Etki mekanizması karbamazepin ile

benzerlik gösteren OXC, primer etkisini voltaj bağımlı sodyum kanallarını inhibe ederek göstermektedir (McLean ve diğ., 1994; Waldmeier ve diğ., 1995; Meldrum, 1996). Bu amaca yönelik olarak *in vitro* koşullarda gerçekleştirilen bazı çalışmalar, OXC'nin aksiyon metabolizmalarından birinin, karbamazepine benzer şekilde yüksek frekanslı, voltaj duyarlı Na^+ kanallarının inhibisyonu olduğunu ortaya koymaktadır (McLean ve diğ., 1994; Wamil ve diğ., 1994). Yine *in vitro* yürütülen başka bir araştırmada yeni antiepileptik ajanlardan gabapentin, karbamazepin, lamotrijin, topiramat, tiagabin ve okskarbazepin'in sıçan astrosit primer kültürleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Hücre canlılığı (MTT yöntemi ile), olgunlaşma ve differensiyasyon (glutamin sentetaz aktivitesi), stres koşullarının varlığında (reaktif oksijen türlerinin oluşumu, nitrik oksit ekspresyonu gibi) nöronların fonksiyonları değerlendirilmiştir. Kullanılan tüm ajanların 1, 10, 50 ve 100 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonlarındaki etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre; MTT değerlendirmesinde, 1 ve 10 $\mu\text{g/ml}$ gibi düşük konsantrasyonlarda OXC'nin hücrelerin tetrazolium tuzlarını metabolize etmesinde bir azalma meydana getirdiği gözlenmiştir. Doz artışına paralel olarak OXC'nin hücrelerde nitrik oksit biyosentezini artırdığı ve enzimatik aktivitede de değişiklik meydana getirdiği tespit edilmiştir (Pavone ve Cardile, 2003). Hippokampal nöronal hücrelere uygulanan OXC'nin reaktif oksijen türevlerinde artışa, mitokondrial zar potansiyelinde ise, azalmaya neden olduğu ve uygulandığı 300 μM 'lık dozla bu hücreler üzerinde toksik etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Araujo ve diğ., 2004).

Elektrofizyolojik metodları uygulayarak karbamazepin ve okskarbazepin'in aksiyon potansiyellerini inceleyen Giustizieri ve diğ., (2008) 300 μM dozda OXC'nin hippocampusun CA1 bölgesindeki primidal nöronlardaki tekrarlayıcı aksiyon potansiyellerinin oluşumunu indirgediğini tespit etmişlerdir. McLean ve diğ., (1994) *in vitro* şartlarda omurilik hücrelerinde intraselüler kayıt teknikleri kullanarak OXC için sodyum bağımlı aksiyon potansiyellerinde etkili olan IC_{50} dozunu 50 nM olarak belirtmişlerdir.

Presinaptik ve postsinaptik olmak üzere iki yol ile etkisini gösteren OXC ve LTG gibi antiepileptikleri yüksek dozlarda (150-1500 μM) hippocampalden izole edilen sinir sonlanmalarına uygulayan Sitges ve diğ. (2007 a,b) ekzositik glutamat salınımının doz

artışına bağlı olarak inhibe olduğunu ve bu inhibisyonun presinaptik voltaj duyarlı Na^+ ve Ca^{+2} kanal geçirgenliklerini azalttığını saptamışlardır.

Epilepsinin güncel tedavisinde, çeşitli moleküler hedefler üzerine etki eden antiepileptik ilaçların kullanılmasıyla, hastalık nedeniyle yaşanan nöbetlerin baskılanmasına odaklanılmaktadır. Epilepsi sendromuyla ilişkilendirilen genler ağırlıklı olarak iyon kanallarını kodlamakta ve bu genlerin ekspresyonunda meydana gelebilecek değişikliklerin, hastalığın ortaya çıkmasına sebep olduğu düşünülmektedir (Steinlein, 2004; Graves, 2006). Özellikle esas rolleri merkezi sinir sisteminin içerisinde yer alan nöronların uyarılabilirliğini sağlamak ve düzenlemek olan VGSC'ler, antiepileptik ajanlar için önemli bir hedef olarak görülmektedir (Rogawski ve Löscher, 2004). VGSC'lerin α alt ünitesini kodlayan on adet genden dokuz tanesi fonksiyonel olarak aktiftir. Bu, Na^+ kanalı izoformlarından: $\text{Na}_v1.1$ (SCN1A), $\text{Na}_v1.2$ (SCN2A) ve $\text{Na}_v1.6$ (SCN8A)'nın yetişkin merkezi sinir sisteminde; $\text{Na}_v1.3$ (SCN3A)'nın fetal sinir dokusunda; $\text{Na}_v1.4$ (SCN4A)'nın iskelet kasında; $\text{Na}_v1.5$ (SCN5A)'nın kalp kasında; $\text{Na}_v1.7$ (SCN9A), $\text{Na}_v1.8$ (SCN10A) ve $\text{Na}_v1.9$ (SCN11A)'nın periferik sinir sisteminde bulunduğu tespit edilmiştir (Meldrum ve Rogawski, 2007).

Na^+ kanalı izoformlarından olan $\text{Na}_v1.1$, $\text{Na}_v1.2$, $\text{Na}_v1.3$ ve $\text{Na}_v1.6$; uyarılabilir hücrelerde aksiyon potansiyellerinin meydana gelmesine neden olan hızlı ve süresiz Na^+ akımlarına aracılık etmektedir. Bu izoformların davranışlarında ya da ekspresyon paternlerinde olası mutasyonların, epilepsinin ortaya çıkışında ve bununla birlikte nöbetlerin yaşanmasında rol oynayabileceği öne sürülmektedir (Rogawski ve Löscher, 2004). Jeneralize epilepsili hastalarda $\text{Na}_v1.2$ proteinini kodlayan SCN2A geninde birtakım mutasyonların meydana geldiği, farklı kalıtsal epilepsili hastalarda $\text{Na}_v1.1$ proteinini kodlayan SCN1A geninde beş yüzden fazla mutasyon olduğu tespit edilmiştir (Meisler ve Kearney, 2005; Claes ve diğ., 2009; Lossin, 2009). Yeni nesil antiepileptik ajanlardan biri olan LTG'nin $\text{Na}_v1.1$ ve $\text{Na}_v1.2$, OXC'nin de $\text{Na}_v1.2$ iyon kanalları üzerinde terapötik etkilerinin bulunduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Meldrum ve Rogawski, 2007).

Literatürde OXC ile yürütülen çalışmalar sinir sistemine ait hücreler veya hastalıklar üzerine olup, prostat veya diğer kanser hücreleri üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlanmadığı gibi, kullanılan OXC dozlarının da bizim kullandığımızdan en az

10 misli yüksek olduğu görülmektedir. Sıçan prostat hücreleri ve OXC ile sürdürdüğümüz bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlarla, literatürde verilen ve OXC'nin nöronlar üzerinde inhibe edici etki meydana getirdiğini ortaya koyan çalışmalar arasında görülen farklılığın nedeninin, kullanılan hücre soylarının farklı olmasının yanı sıra daha yüksek OXC dozlarının kullanılması ya da hücrelerin Na⁺ kanal izoformlarının farklı olması gibi birden fazla etkenden dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Etkilerini araştırdığımız LTG ve OXC'nin Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketini yani, VGSC'lerini bloke edip etmedikleri güçlü sodyum kanal blokleri TTX ile de karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Şekil 5.1). Bu amaçla 600 nM ve 1 µM TTX'in Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketi/migrasyonu üzerindeki etkileri incelenmiş ve 600 nM TTX'in hücrelerin hareketini %14,8 ve 1 µM TTX'in ise, %16,9 oranında anlamlı olarak inhibe ettiği saptanmıştır.

Dunning modeli sıçan prostat kanseri hücreleriyle yapılan çalışmalarda, hücrenin metastatik özelliğinin bir belirteci olan motilite/migrasyon yeteneği farklı metodlar ile *in vitro* olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda olduğu gibi, lateral hareketin değerlendirildiği “wound heal” yöntemini kullanan Fraser ve diğ., (2003) 1 µM TTX'in, Mat-LyLu hücrelerinin lateral motilitesini %47 oranında azalttığını göstermişlerdir. Hücrelerin bazal membranı geçme yeteneği olarak adlandırılan ve metastatik sürecin vazgeçilmez bir adımı olan “invazyon” ise, “Boyden chamber” yöntemi ile *in vitro* olarak değerlendirilmiş ve 600 nM TTX'in, Mat-LyLu hücrelerinin giriciliğini %33 oranında azalttığı, ancak düşük metastatik AT-2 hücrelerinin invazyon yeteneklerinde ise, bir değişiklik meydana getirmediği tespit edilmiştir (Grimes ve diğ., 1995). “Transverse migration” metodu kullanılarak da, TTX uygulamasının, Mat-LyLu ve PC-3 hücrelerinin hareket yeteneklerini azalttığı ortaya konmuştur (Ding ve diğ. 2008). Değişen derecelerde metastatik potansiyele sahip sıçan ve insan prostat kanser hücreleriyle yaptığı çalışmada Smith ve diğ., (1998) hücrelerin invazyon yetenekleri ile plazma membranlarındaki VGSC protein ekspresyonu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir.

Mat-LyLu hücreleri ve TTX ile yapılan *in vitro* çalışmalarda, TTX'in hücre hareketi üzerinde belirgin bir etki göstermesine karşın, Mat-LyLu hücrelerinin proliferasyonu üzerinde bir etki meydana getirmediği belirlenmiştir. 600 nm, 1µM ve 6µM

konsantrasyonlardaki TTX'in, 48. saatin sonunda hücre çoğalmasını inhibe edici veya toksik bir etkisine rastlanmamış (Grimes ve diğ., 1995; Recatala., 1999; Fraser ve diğ., 2000; Fraser ve diğ., 2003) olup, elde ettiğimiz sonuçlar literatürdeki bulgular ile paralellik göstermektedir.

Altun ve Djamgoz (2008), kuvvetli metastatik özellikteki Mat-LyLu hücrelerinin Copanhagen ırkı sıçanlara deri altına enjekte edilmesiyle oluşturulan *in vivo* prostat kanser modelinde, TTX'in intratümöral uygulamasının; primer tümör büyümesini ortalama %34 oranında kısmi olarak inhibe ettiğini, akciğer metastazlarını %44 oranında azalttığını ve hayvanların yaşam süresinin %22 oranında arttığını göstermiştir.

Prostat kanserinin gelişimi ve ilerlemesinde rol alan VGSC'lerin alt tipleri üzerinde yapılan araştırmalarda, bu alt tiplerin, farklı biyofiziksel karakterlere ve toksinlere hassasiyet gibi, değişik farmakolojik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. $Na_v1.1$, $Na_v1.6$ ve $Na_v1.7$ gibi, çoğu VGSC α alt ünitesi -40 mV'da aktive olur ve hızlı inaktivasyon kinetiğine sahiptir. Bazıları ise, ($Na_v1.5$, $Na_v1.8$ ve $Na_v1.9$) daha hiperpolarize potansiyelde (-60 mV ya da daha negatif) aktive olur ve daha yavaş inaktivasyon kinetiğine sahiptir. Çalışmamızda da kullandığımız yüksek metastatik özelliğe sahip olan Mat-LyLu hücrelerinde en az yedi farklı VGSC α alt tipi mRNA bulunmaktadır ve en yüksek mRNA seviyesi $Na_v1.7$, $Na_v1.1$ ve Na_x alt tiplerine ait olup, baskın izoform $Na_v1.7$ 'dir (Diss ve diğ., 2001; Diss ve diğ., 2004).

Çalışmada; Na^+ kanallarını bloke ederek etkisini gösteren yeni nesil antiepileptik ilaçlardan LTG ve OXC'nin, Dunning sıçan prostat tümör modeline ait yüksek metastatik karakterdeki Mat-LyLu hücreleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. 75 μ M LTG ve 0,1 μ M OXC'nin, Mat-LyLu hücrelerinin DNA sentez yüzdelarını stimule ederken proliferasyonunu etkilemedikleri ve lateral hücre hareketi üzerinde istatistik bakımdan anlamlı bir etki göstermedikleri belirlenmiştir. Ayrıca bu sonuçlar, güçlü bir sodyum kanal blokeri olan TTX'in, Mat-LyLu hücrelerinin lateral hareketi üzerinde oluşturduğu inhibisyon ile karşılaştırılmış ve kullanılan ajanların, TTX gibi etkin olmadıkları görülmüştür. TTX'in, baskın VGSC izoformu $Na_v1.7$ olan Mat-LyLu hücrelerinin VGSC'lerini bloke ederek, lateral hareketi inhibe ettiği (Fraser ve diğ., 2003) dikkate alındığında, LTG ve OXC'nin, TTX gibi etkin bir inhibisyon gösterememesi büyük bir

olasılıkla, söz konusu ajanların $\text{Na}_v1.1$ ve $\text{Na}_v1.2$ gibi Na^+ kanal izoformları üzerinde etkili (Meldrum ve Rogawski, 2007) olmalarından kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak, etkisini Na^+ kanalları üzerinde gösteren yeni nesil antiepileptik ilaçlardan LTG ve OXC'nin, Dunning sıçan prostat tümör modeline ait yüksek metastatik Mat-LyLu hücreleri üzerindeki etkilerinin ilk kez araştırıldığı bu çalışmada, söz konusu farmakolojik ajanların, hücrelerin DNA sentez yüzdelerini stimule ederken, VGSC'leri üzerinde TTX gibi bir inhibisyon oluşturmadıkları saptanmış olup, konunun elektrofizyolojik olarak ve/veya gen düzeyinde daha ayrıntılı bir şekilde araştırılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

Elde edilen sonuçlar, prostat kanserinin, iyon kanallarını hedef alan ilaçlarla tedavi edilmesine olanak sağlayacak farmakolojik ajanların/ilaçların belirlenmesi konusunda bilimsel birikime katkı sağlamasının yanı sıra *in vitro* ve *in vivo* yeni çalışmalara zemin hazırlayacaktır.

KAYNAKLAR

- ABETE-SHEN, C., SHEN, M. M., 2000, Molecular genetics of prostate cancer, *Genes Dev.*, 14(19): 2410-34.
- ABETE-SHEN, C., SHEN, M. M., 2002, Mouse models of prostate carcinogenesis, *Trends Genet.*, 18 (5), 2420-34.
- ABRAHAMSSON, P. A., 1999, Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma, *Prostate*, 39(2): 135-48.
- ALTUN, S., DJAMGOZ, M.B.A., 2008, *Na⁺ kanalını bloke eden ajanların anormal karakterli sıçan prostat hücreleri üzerindeki etkisinin in vivo olarak araştırılması*, TUBITAK Proje Raporu, Proje No:104T031.
- AMBROSIO, A. F., SOARES DA SILVA, P., CARVALHO C. M., CARVALHO, A. P., 2002, Mechanisms of Action of Carbamazepine and Its Derivatives, Oxcarbazepine, BIA 2-093, and BIA 2-024, *Neurochemical Research*, Vol. 27, Nos.1/2, 121–130.
- ANDERSON, J. D., HANSEN, T. P., LENKOWSKI, P. W., WALLS, A. M., CHOUDHURY, I. M., SCHENCK, H. A., FRIEHLING, M., HOLL, G. M., PATEL, M. K., SIKES, BROWN, M. L. A, 2003, Voltage-gated sodium channel blockers as cytostatic inhibitors of the androgen-independent prostate cancer cell line PC-3, *Mol. Cancer Ther* 2, 1149–1154.
- APRIKIAN, A. G., TREMBLAY, L., HAN, K., CHEVALIER, S., 1997, Bombesin stimulates the motility of human prostate carcinoma cells through tyrosine phosphorylation of local adhesion kinase and of integrin associated proteins, *International Journal of Cancer*, 72, 498-504.
- ARAUJO, I. M., AMBROSIO, A. F., LEAL, E. C., VERDASCA, M. J., MALVA J. O., SOARES DA SILVA, P., CARVALHO, A. P., CARVALHO, C. M., 2004, Neurotoxicity Induced by Antiepileptic Drugs in Cultured Hippocampal Neurons: A Comparative Study between Carbamazepine, Oxcarbazepine, and Two New Putative Antiepileptic Drugs, BIA 2-024 and BIA 2-093, *Epilepsia*, 45(12):1498–1505.
- AUS, G., ABBOU, C. C., BOLLA, M., HEIDENREICH, A., SCHMID, H. P., VAN POPPEL, H., WOLFF, J., ZATTONI, F., 2005, *EAU Guidelines on Prostate Cancer*, 48, 546-551.
- AYDIN, S., 2007, Türkiye’de üriner sistem kanserlerinin görülme sıklığı, *Türk Üroloji Dergisi*, 33(4): 392-397.

- BANYARD, J., ZETTER, B. R., 1999, The role of cell motility in prostate cancer, *Cancer and Metastasis Reviews*, 17, 449-458.
- BARCHI, L., 1998, Ion channel mutations affecting muscle and brain, *Curr. Opin. Neurol.* 11, 461– 468.
- BASLO, M. B., YILDIZ, N., YALINAY, P., ERTAŞ, M., 2002 Effect of triggering potential on calculations of jitter in single-fiber EMG, *Muscle Nerve.*, 25(6): 906-8.
- BAŞAKLAR, C., 1993, Ürogenital sistem, *Langman's Medikal Embriyoloji*, Palme Yayıncılık, 246-282.
- BAYKAN, B., GÜRSER, C., GÖKYİĞİT, A., 2004, *Nöroloji. Ed.: Öge. EA., Epilepsi*, 2.Basım, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 279-308.
- BENNETT, E. S., SMITH, B. A., HARPER, J. M., 2004, Voltage-gated Na⁺ channels confer invasive properties on human prostate cancer cells, *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 447: 908-914.
- BERGES, R. R., VUKANOVIC, J., EPSTEIN, J. I., CARMICHEL, M., CISEK, L., JOHNSON, D. I., VELTRI, R. W., WALSH, P.C., ISAACS, J. T., 1995, Implication of cell kinetic changes during the progression of human prostatic cancer, *Clin. Cancer Res.*, 1, 473-480.
- BERQUIN, I.M., MIN, Y., WU, R., WU, J., PERRY, D., CLINE, J. M., THOMAS, M. J., THORNBURG, T., KULIK, G., SMITH, A., EDWARDS, I. J., D'AGOSTINO, R., ZHANG, H., WU. H., KANG, J. X., CHEN, Y. Q., 2007, Modulation of prostate cancer genetic risk by omega-3 and omega-6 fatty acids, *J Clin Invest.*, 117(7): 1866-75.
- BEYDOUN, A., SHAIBANI, A., HOPWOOD, M., WAN, Y., 2006, Oxcarbazepine in painful diabetic neuropathy: results of a dose-ranging study, *Acta Neurol Scand*, 113: 395–404.
- BUI, M., REITER, R. E., 1998, Stem cell genes in androgen-independent prostate cancer, *Cancer Metastasis Rev.*, 17(4): 391-9.
- BLACKLOCK, N. J., BOUSKILL, K., 1977, The zonal anatomy of the prostate in man and in the rhesus monkey (*Maeaca mulatta*), *Urol Res.*, 5:163-167.
- BODDY, G. L., GAL, S., MALONE, P. R., SHAIDA, N., WAINSCOAT, J. S., HARRIS, A. L., 2006, The role of cell-free DNA size distribution in the management of prostate cancer, *Oncol. Res.*, 16, 35-41.
- BONKHOFF, H., REMBERGER, K., 1998, Morphogenetic concepts of normal and abnormal growth in the human prostate, *Virchows archive*, 433: 195-202.
- BOSLAND, M. C., 1999, Use of Animal Models in Defining Efficacy of Chemoprevention Agents against Prostate Cancer, *Eur. Urol*, 35, 459-463.

- BOSTWICK, D. G., 1996, Prospective origins of prostate carcinoma: Prostatic intraepithelial neoplasia and atypical adenomatous hyperplasia, *Cancer*, 78(2): 330-6.
- BOSTWICK, D. G., CHANG, L., 1999, Overdiagnosis of prostatic adenocarcinoma *Semin. Urol. Oncol.*, 19, 199-205.
- BRAWER, M. K., PEEHL, D. M., STAMEY, T. A., BOSTWICK, D. G., 1985, Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate, *Cancer Res.*, 45(8): 3663-7.
- BRODIE, M. J., OVERSTALL, P. W., GIORGI, L., 1999, The UK Lamotrigine elderly study group. multicenter, double-blind, randomised comparison between lamotrigine and carbamazepine in elderly patients with newly diagnosed epilepsy, *Epilepsy Res.*, 37, 18-87.
- CALABRESI, P., CENTONZE, G., MARFIA, A., PISANI, A., BERNARDI, G., 1999, An in vitro electrophysiological study on the effects of phenytoin, lamotrigine and gabapentin on striatal neurons, *British Journal of Pharmacology*, 126, 689-696.
- CALBRESE, J. R., 2000, A double-blind, placebo-controlled, prophylaxis study of lamotrigine in rapid-cycling bipolar disorder, *J Clin Psychiatry*, 61, 841-850.
- CARPTEN, J., NUPPONEN, N., ISAACS, S., SOOD, R., ROBBINS, C., XU, J., 2002, Germline mutations in the ribonuclease L gene in families showing linkage with HPC1, *Nat. Genet.*, 30, 181-184.
- CATTERALL, W. A., 1992, Cellular and molecular biology of voltage-gated sodium channels, *Physiol Rev.*, 72, S15-S48.
- CESTELE, S., CATTERALL, W. A., 2000, Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels, *Biochimie*, 82, (9-10), 883-892.
- CHANG, M., TSUCHIYA, K., BATCHELOR, R. H., KULANDER, B. G., HAGGITT, R. C., BURMER, G. C., 1994, Deletion mapping of chromosome 8p in colorectal carcinoma and dysplasia arising in ulcerative colitis, prostatic carcinoma, and malignant fibrous histiocytomas, *Am. J. Pathol.*, 144: 1-6.
- CHEUNG, E., WADHERA, P., DORFF, T., PINSKI, J., 2008, Diet and prostate cancer risk reduction, *Expert Rev Anticancer Ther.*, 8(1): 43-50.
- CHING, K. Z., RAMSEY, E., PETTIGREW, N., CUNHA, R. D., JASON, M., DODD, J. G., 1993, Expression of mRNA for epidermal growth factor, transforming growth, alpha and their receptor in human prostate tissue and cell lines, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 126, 151-158.
- CLAES, L. R., DEPREZ, L., SULS, A., BAETS, J., SMETS, K., VAN, D. T., DECONINCK, T., JORDANOVA, A., DE, J. P., 2009, The SCN1A variant database: a novel research and diagnostic tool, *Hum Mutat.*, 30: 904-920.

CLARE, J. J., TATE, S. N., NOBBS, M., ROMANOS, M. A., 2000, Voltage gated sodium channels as therapeutic targets, *DDT*, 5, 11, 506-520.

CRAMER, J. A., BEN-MENACHEM, E., FRENCH, J., 2001, Review of treatment options for refractory epilepsy: new medications and vagal nerve stimulation, *Epilepsy Res*, 47, 17-25.

CRAWFORD, E. D., 2009, Understanding the epidemiology, natural history and key pathways involved in prostate cancer, *Urology*, 73, suppl. 5a, 4-10.

CRUMRINE, R. C., BERGSTRAND, K., COOPER, A. T., FAISON, W. L., COOPER, B. R., 1997, Lamotrigine protects hippocampal CA1 neurons from ischemic damage after cardiac arrest, *Stroke*, 28, 2230-2236.

CZAPINSKI, P., BASZCZYK, B., CZUCZWAR, S. J., 2005, Mechanisms of action of antiepileptic drugs, *Cur. Topics in Med Chem*, 5, 3-14.

ÇALIŞ, Ü., 2002, (online), Antiepileptik İlaçlar, <http://yunus.hacettepe.edu.tr/~ucalis/PDF/C13.pdf> (Ziyaret Tarihi: 16 Kasım 2010).

DE MARZO, A. M., NELSON, W. G., COFFEY, D. S., 1998, Stem cell features of benign and malignant prostate epithelial cells, *J. Urol.*, 160: 2381-92.

DENAC, H., MAVISSEN, M., SCHOLTYSIK, G., 2000, Structure, function and pharmacology of voltage-gated sodium channels, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 362, 453-479.

DENIS, L., MORTON, M. S., GRIFFITHS, K., 1999, Diet and its preventive role in prostatic disease, *European Urology*, 35(5-6), 377-387.

DING, Y., BRACKENBURY, W. J., ONGANER, P. U., MONTANO, X., PORTER, L. M., BATES, L. F., DJAMGOZ, M. B., 2008, Epidermal growth factor upregulates motility of Mat-LyLu rat prostate cancer cells partially via voltage-gated Na⁺ channel activity, *Journal of Cellular Physiology*, 215: 77-81.

DI SANT'AGNESE, A. M., 1998, Neuroendocrine cells of the prostate and neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma: a review of morphologic aspects, *Urology*, 51(5A Suppl.): 121-4.

DISS, J. K., STEWART, D., FRASER, S. P., BLACK, J. A., DİB-HAJJ, S., WAXMAN, S. G., ARCHER, S. N., DJAMGOZ, M. B., 1998, Expression of skeletal muscle-type voltage-gated Na⁺ channel in rat and human prostate cancer cell lines, *FEBS Lett.*, 427(1):5-10.

DISS, J. K., ARCHER, S. N., HIRANO, J., FRASER, S. P., DJAMGOZ, M. B., 2001, Expression profiles of voltage-gated Na⁺ channel alpha-subunit genes in rat and human prostate cancer cell lines, *Prostate*, 48(3):165-78.

- DISS, J. K., FRASER, S. P., DJAMGOZ, M. B., 2004, Voltage-gated Na⁺ channels: multiplicity of expression, plasticity, functional implications and pathophysiological aspects, *Eur Biophys J.*, 33(3):180-93.
- DJAMGOZ, M. B. A., MYCIELSKA, M., MADEJA, Z., FRASER, S. P., KOROHODA, W., 2001, Directional movement of rat prostate cancer cells in direct-current electric field: involvement of voltage-gated Na⁺ channel activity, *Journal of Cell Science*, 114: 2697-2705.
- DOGRA, S., BEYDOUN, S., MAZZOLA, J., HOPWOOD, M., WAN, Y., 2005, Oxcarbazepine in painful diabetic neuropathy: a randomized, placebo-controlled study, *European Journal of Pain*, 9 , 543–554
- EDWARDS, K. R., SACKELLARES, J. C., VUONG, A., HAMMER, A. E, BARRETT, P. S., 2001, Lamotrigine monotherapy improves depressive symptoms in epilepsy: a double-blind comparison with valproate, *Epilepsy Behav*, 2, 28–36.
- ERDİNÇ, O., YİĞİT, A., YENİ, N., 2001, *Epilepsi*, 1. Basım, 5US Yayın, İstanbul.
- ERÖZENCİ, A., 2003, Prostat büyümesi ve prostat kanseri, *Actual Medicine*, Cilt:11, Sayı:3, 25-28.
- EŞKAZAN, E., ONAT, F., 2008, *Epilepsinin medikal tedavisi*, 1. baskı, İstanbul, Nobel Matbaacılık, 2008; 595-607
- FISKE, J. L., FOMIN, V. P., BROWN, M. L., DUNCAN, R. L., SIKES, R. A, 2006, Voltage sensitive ion channels and cancer, *Cancer Metastasis Reviews*, 25, 493-500.
- FOSTER, C. S., CORNFORD, P., FORSYTH, L., DJAMGOZ, M. B. A., KE, Y., 1999, The cellular and molecular basis of prostate cancer, *British Journal of Urology*, 83, 171-194.
- FRASER, S. P., DING, Y., LIU, A., FOSTER C. S., DJAMGOZ, M. B. A., 1999, Tetrodotoxin suppresses morphological enhancement of the metastatic Mat-LyLu rat prostate cancer cell line, *Cell & Tissue Research*, 295: 505-512.
- FRASER, S. P., GRİMES, J. A., DJAMGOZ, M. B. A., 2000, Effects of voltage-gated ion channel modulators on rat protastic cancer cell proliferation: Comprarison of strongly and weakly metastatic cell lines, *The Prostate*, 44, 61-76.
- FRASER, S. P., SALVADOR, V., MANNING, E., MIZAI, J., ALTUN, S., RAZA, M., BERRIDGE, R., DJAMGOZ, M. B. A., 2003, Contribution of functional voltage-gated Na⁺ channel expression to cell behaviours involved in the metastatic cascade in rat prostate cancer: I. Lateral motility, *Journal of Cellular Physiology*, 195: 479-487.

FRASER, S. P., DISS, J. K., CHIONI, A. M., MYCIELSKA, M. E., PAN, H., YAMACI, R. F., PANI, F., SIWY, Z., KRAKOWSKA, M., GRZYWNA, Z., BRACKENBURY, W. J., THEODOROU, D., KOYUTURK, M., KAYA, H., BATTALOGLU, E., TAMBURO DE BELLA, M., SLADE, M. J., TOLHURST, R., PALMIERI, C., JIANG, J., LATCHMAN, D. S., COOMBES, R. C., DJAMGOZ, M. B. A., 2005, Voltage-gated sodium channel expression and potentiation of human breast cancer metastasis, *Clin.Cancer Res.* 11, 5381–5389.

GIUSTIZIERI, M., ARMOGIDA, M., BERRETTA, N., FEDERICI, M., PICCIRILLI, S., MERCURI, N. B., NISTICO, R., 2008, Differential Effect of Carbamazepine and Oxcarbazepine on Excitatory Synaptic Transmission in Rat Hippocampus, *Synapse*, 62:783–789.

GRAVES, T. D., 2006, Ion channels and epilepsy, *QJM*, 99:201–217.

GRIMES, J. A., FRASER, S. P., STEPHENS, G. J., DOWNING, J. E. G., LANIADO, M. E., FOSTER, C. S., ABEL, P. D., DJAMGOZ, M. B. A., 1995, Differential expression of voltage-activated Na^+ currents in two prostatic tumour cell lines: contribution to invasiveness in vitro, *FEBS Letters*, 369: 290-294.

GRIMES, J. A., DJAMGOZ, M. B., 1998, Electrophysiological characterization of voltage-gated Na^+ current expressed in the highly metastatic Mat-LyLu cell line of rat prostate cancer, *Journal of Cellular Physiology*, 175, (1), 50-58.

GÜVEN, M., KAHRAMAN, İ., KOÇ, F., ÖZDEMİR, H., SARICA, Y., GÜNAY, I., 2010, The effects of oxcarbazepine on 4-aminopyridine-induced afterpotentials on isolated rat sural nerves, *Journal of Neurological Sciences*, 27(2), 139-149.

HADDAD, A. Q., VENKATESWARAN, V., VISWANATHAN, L., TEAHAN, S. J., FLESHNER, N. E., KLOTZ, L. H., 2006, Novel antiproliferative flavonoids induce cell cycle arrest in human prostate cancer cell lines, *Prostate cancer and prostatic diseases*, 9, 68-76.

HELLERSTEDT, B. A., PIENTA, K. J., 2002, The current state of hormonal therapy for prostate cancer, *CA Cancer Journal for Clinicians*, 52: 154-179.

HUANG, C. W., HUANG, C. C., LIN, M. W., TSAI, J. J., WU, S. N., 2008, The synergistic inhibitory actions of oxcarbazepine on voltage-gated sodium and potassium currents in differentiated NG108-15 neuronal cells and model neurons, *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 11, 597–610.

ITSIOPOULOS, C., HODGE, A., KAIMAKAMIS, M., 2009, Can the Mediterranean diet prevent prostate cancer?, *Mol Nutr Food Res*, 53(2): 227-39.

IZAWA, I. J., DINNEY, C. P. N., 2001, The role of angiogenesis in prostate and other urologic cancers: a review, *CMAJ*, 164(5):662-70.

JEFFERSON, M. D., 2005, Lamotrigine in psychiatry: Pharmacology and therapeutics, *CNS Spectr*, 10(3): 224-232.

- JEMAL, A., MURRAY, T., WARD, E., SAMUELS, A., TIWARI, R. C. ,GHAFOOR, A., 2005, Cancer statistics, *CA Cancer J. Clin*, 2005, 55:10-30.
- JEMAL, A., SIEGEL, R., WARD, E., MURRAY, T., XU, J., SMIGAL, C., THUN, M. J., 2006, Cancer statistics, *CA Cancer Journal for Clinicians*, 56: 106-130.
- JEMAL, A., CARTER, M. M. , DE SANTIS, C., 2010, Global patterns of cancer incidence and mortality rates & trends, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevention*, 19: 1893-1907.
- JOHANNESSEN, C., 2008, Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders relations between mechanisms of action and clinical efficacy, *CNS Drugs*, 22 (1): 27-47.
- JOHNS, L. E., HOULSTON, R. S., 2003, A systematic review and meta-analysis of familial prostate cancer risk, *BJU International*, 91, 789-794.
- JOHNSON, J., 2002, *Tetrodotoxin* [online], The Florida State University, <http://www.chm.bris.ac.uk/motm/ttx/ttx.htm> [Ziyaret Tarihi: 01.09.2010].
- KAGEYAMA, Y., HYOCHI, N., KIHARA, K., SUGIYAMA, H., 2007, The androgen receptor as putative therapeutic target in hormone-refractory prostate cancer, *Recent Patents on Anticancer Drug Discovery*, 2: 203-211.
- KALLIONIEMI, O. P., VISAKORPI, T., 1996, Genetic basis and clonal evolution of human prostate cancer., *Adv Cancer Res.*, 68:225-55.
- KARAGÖZ, E. T., 2002, Yetişkinlerde Epilepsinin Tıbbi Tedavisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 4 (3): 30-34.
- KAYIGİL, Ö., 2006, Erkek infertilitesinde tanı yöntemleri, *Türk Üroloji Yeterlilik Kurulları sınav hazırlık kitabı*, İstanbul, Kongre Basımevi, 266-268.
- KOLONEL, L. N., NOMURA, A. M. Y., COONEY, R. V., 1999, Dietary fat and prostate cancer: current status, *J. National Cancer Institute*, 91, 414-428.
- KUNZELMANN, K., 2005, Ion channels and cancer, *The Journal of Membrane Biology*, 205, 159-173.
- KUO, C. C., LU, L., 1997, Characterization of lamotrigine inhibition of Na⁺ channels in rat hippocampal neurones, *British Journal of Pharmacology*, 121, 1231-1238.
- KYPRIANOU, N., TU, H., JACOBS, S. C., 1996, Apoptotic versus proliferative activities in human benign prostatic hyperplasia, *Hum. Pathol.*, 27: 668.
- LA ROCHE, S. M., HELMERS, S. L., 2004, The new antiepileptic drugs, *JAMA*, 291(5), 605-615.
- LAI, H. C., JAN, L.Y., 2006, The distribution and targeting of neuronal voltage-gated ion channels, *Nat. Rev. Neurosci.* 7:548–562.

- LANIADO, M. E., LALANI, E. N., FRASER, S. P., GRIMES, J. A., BHANGAL, G., DJAMGOZ, M. B. A., ABEL, P. D., 1997, Expression and functional analysis of voltage-activated Na^+ channels in human prostate cancer cell lines and their contribution to invasion in vitro, *American Journal of Pathology*, 150: 1213-1221.
- LANG, D. G., WANG, C. M., COOPER, B. R., 1993, Lamotrigine, phenytoin and carbamazepine interactions on the sodium current present in N4TG1 mouse neuroblastoma cells, *J Pharmacol Exp Ther*, 266, 829– 835.
- LARKIN, J. G., MCKEE, P. J., FORREST, G., BEASTALL, G. H., PARK, B. K., LOWRIE, J. I., 1991, Lack of enzyme induction with oxcarbazepine (600 mg daily) in healthy subjects, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 31, 65–71.
- LEACH, J. P., BRODIE, M. J., 1995, Non epileptic drugs- an explosion of activity, *Seizure*, 4:5-17.
- LE GUENNEC, J. Y., OUADID-AHIDOUCH, H., SORIANI, O., BESSON, P., AHIDOUCH, A., VANDIER, C., 2007, Voltage-gated ion channels, new targets in anti-cancer research, *Recent patents in anticancer drug discovery*, 2: 189-202.
- LERCHE, H., JURKAT-ROTT, K., LEHMANN-HORN, F., 2001, Ion channels and epilepsy, *American Journal of Medical Genetics (Semin. Med. Genet.)*, 106:146-159.
- LIU, A. Y., TRUE, L. D., LA TRAYS, L., NELSON, P., ELLIS, W., VESSELLA, R., 1997, Cell-cell interaction in prostate gene regulation and cytodifferentiation, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 94(20): 10705-10.
- LOSSIN, C., 2009, A catalog of SCN1A variants, *Brain Dev*, 31:114–130.
- MADEJA, Z., MIEKUS, K., CZERNIK, M., SROKA, J., CZYZ, J., 2005, Contact stimulation of prostate cancer cell migration: The role of gap junctional coupling and migration stimulated by heterotypic cell-to-cell contacts of Dunning rat prostate cancer cells, *Biol. Cell*, 97(12), 893-903.
- MANTEGAZZA, M., CURIA, G., BIAGINI, G., RAGSDALE, D. S., AVOLI, M., 2010 Voltage- gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders, *Lancet Neurol.*, 9:413–424.
- MCLEAN, M. J., SCHMUTZ, M., WAMIL, A. W., OLPE, H. R., PORTET, C., FELDMANN, K. F., 1994, Oxcarbazepine: mechanisms of action, *Epilepsia*, 35 (suppl. 3), 5–9.
- MCNEAL, J., 1972, The prostate and prostatic urethra: A morphologic study, *J. Urol.*, 107: 1008-16.
- MCNEAL, J., 1997, *Prostate histology for pathologists*, Second ed. Lippincott-Raven Publishers, 997-1018.

- MEHIK, A., 2000, Prostatic tissue pressure measurement as a possible diagnostic procedure in patients with chronic nonbacterial prostatitis/chronic pelvic pain syndrome, *Urological Research*, Volume 28, No: 5, 316-318.
- MEISLER, M. H., KEARNEY, J. A., 2005, Sodium channel mutations in epilepsy and other neurological disorders, *J. Clin. Invest.*, 115, 2010-2017.
- MELDRUM, B. S., 1996, Update on the mechanism of action of antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 37(suppl 6): 4-11.
- MELDRUM, S., ROGAWSKI, M. A., 2007, Molecular targets for antiepileptic drug development, *American Society for Experimental Neuro Therapeutics*, 4, 18-61.
- MERRILL, R.M., MORRIS, M.K., 2002, Prevalence-corrected prostate cancer incidences rates and trends, *Am. J. Epidemiol.*, 155, 148-152.
- MONTANO, X., DJAMGOZ, M. B. A., 2004, Epidermal growth factor, neurotrophins and the metastatic cascade in prostate cancer, *FEBS letters*, 571, 1-8.
- MOSMANN, T., 1983, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *Journal of Immunological Methods*, 65: 55-63.
- MYCIELSKA, M. E., FRASER, S. P., SZATKOWSKI, M., DJAMGOZ M. B. A., 2003 Contribution of functional voltage-gated Na⁺ channel expression to cell behaviors involved in the metastatic cascade in rat prostate cancer: II. Secretory membrane activity, *Journal of Cellular Physiology*, 195: 461-469.
- MYCIELSKA, M. E., PALMER, C. P., BRACKENBURY, W. J., DJAMGOZ M. B. A., 2005, Expression of Na⁺ dependent citrate transport in a strongly metastatic human prostate cancer PC-3M cell line: regulation by voltage gated Na⁺ channel activity, *Journal of Physiology*, 563 (2): 393-408.
- NAGLE, R. B., AHMANN, F., MCDANIEL, K., PAQUIN, M., CLARK, V., CELNIKER, A., 1987, Cytokeratin characterization of human prostatic carcinoma and its derived cell lines, *Cancer Res.*, 47(1): 281-6.
- NAVONE, N. M., LOGOTHETIS, C. J., VON ESCHANBACH, A. C., TRONCOSO, P., 1999, Model systems of prostate cancer: Uses and limitations, *Cancer and Metastasis Reviews*, 17, 361-371.
- NWOSU, V., CARPTEN, J., TRENT, J. M., SHERIDAN, R., 2001, Heterogeneity of genetic alterations in prostate cancer: evidence of the complex nature of the disease, *Hum. Mol. Genet.*, 10, 2313-2318.
- ÖZALPAN, A., 2001, *Temel Radyobioloji*, Haliç Üniversitesi Yayınları, İstanbul.
- ÖZATEŞ, M., ACAR, M., BAŞAK, F., 2003, Epilepsili çocuklarda kranyal MRG bulguları, *Tanışal ve Girişimsel Radyoloji*, 9:427-431.

ÖZDEMİR, O., 2005, *Medikal İstatistik*, 314 sayfa, 1. Baskı, ISBN: 975-6395-47-8, İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul.

PALMER, C. P., MYCIELSKA, M. E., BURCU, H., OSMAN, K., COLLINS, T., BECKERMAN, R., PERRETT, R., JOHNSON, H., AYDAR, E., DJAMGOZ, M. B. A., 2008, Single cell adhesion measuring apparatus (SCAMA): application to cancer cell lines of different metastatic potential and voltage-gated Na⁺ channel expression, *European Biophysics Journal*, 37: 359–368.

PARKIN, D. M., PISANI, P., FERLAY, J., 1999, Global cancer statistics, *CA Cancer J. Clin.*, 49(1):33-64.

PATEL, A. R, KLEIN E. A., 2009, Risk factors for prostate cancer, *Nat Clin Pract Urol.* 6(2): 87-95.

PAVONE, A., CARDILE, V., 2003, An *In vitro* study of new antiepileptic drugs and astrocytes, *Epilepsia*, 44(10), 34-39.

PENSON, D. F., ALBERTSEN, P. C., 2002, Lessons learnt about early prostate cancer from large scale databases: population-based pearls of wisdom, *Surgical Oncology*, 11, 3-11.

PISANI, F., OTERI, G., RUSSO, M. F., DI-PERRI, R., PERUCCA, E., RICHENS, A., 1999, The efficacy of valproate-lamotrigine comedication in refractory complex partial seizures: evidence for a pharmacodynamic interaction, *Epilepsia*, 40, 1141–1146.

POLAT, S., 2002, Ürogenital sistem, *İnsan Embriyolojisi*, 303-348.

POLLARD, M., 1980, Animal Models for Prostate Cancer, *Prostate*, 1(2), 207-13.

PORTER, R. J., ROGAWSKI, M. A., 1992, New antiepileptic drugs: from serendipity to rational discovery, *Epilepsia*, 33 (suppl. 1), 1–6.

PREUSSAT, K, BEETZ, C, SCHREY, M., 2003, Expression of voltage-gated potassium channels K_v1.3 and K_v1.5 in human gliomas. *Neurosci Lett.* 346(1–2), 33–36.

RAGSDALE, D. S., AVOLI, M., 1998, Sodium channels as molecular targets for antiepileptic drugs, *Brain Res Rev.*, 26, 16– 28.

RECATALA, V. S., 1999, *A study on the contribution of voltage-gated Na⁺ channel activity to rodent prostate cancer cell migration in vitro*, Thesis (PhD), Imperial College of Science, Technology and Medicine, Department of Biology.

REMY, S., BERND, W., BECK, E. H., 2003, Anticonvulsant pharmacology of vgsc in hippocampal neurons of control and chronically epileptic rats, *European Journal of Neuroscience*, vol. 17, 1-11.

ROGAWSKI, M. A., LOSCHER, W., 2004, The neurobiology of antiepileptic drugs, *Nat. Rev. Neurosci.*, 5(7), 553–564.

- ROGER, S., POTIER, M., VANDIER, C., BESSON, P., LE GUENNEC, J. Y., 2006, Voltage-gated sodium channels: new targets in cancer therapy?, *Current Pharmaceutical Design*, 12, 3681-3695.
- ROKMAN, A., IKONEN, T., SEPPALA, E. H., AUTIO, V., MONONEN, N., 2002, Germline alterations of the RNASEL gene, a candidate HPC1 gene at 1q25, in patients and families with prostate cancer, *Am. J. Hum. Genet.*, 70, 1299-1304.
- SARMA, A. V., SCHOTTENFELD, D., 2002, Prostate cancer incidence mortality and survival trends in the United States: 1981-2001, *Semin. Urol. Oncol.*, 20, 3-9.
- SENDROWSKI, K., SOBANIEC, W., 2005, New antiepileptic drugs –an overview, *Annales Academiae Medicae Bialostocensis*, Vol: 50, Suppl. 1, 96-98.
- SCHAPPEL, G. J., BERAN, R. G., VAJDA, F. J., 1993, Double-blind placebo-controlled, cross-over study of lamotrigine in treatment resistant partial seizure, *J. Neurosurg. Psychiatry*, 56(5), 448-453.
- SCHORAH, C. J., 1999, Micronutrients, vitamins and cancer risk, *Vit. Horm.*, 57, 1-23.
- SHELLEY, M., WILT, T. J., COLES, B., MASON, M. D., 2007, Cryotherapy for localised prostate cancer, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 18(3), issue: 3, 1-17.
- SHERWOOD, E. R., BERG, L., MITCHELL, N., MCNEAL, J., KOZLOWSKI, J., LEE, C., 1990, Differential cytokeratin expression in normal, hyperplastic and malignant epithelial cells from human prostate, *J. Urol.*, 143(1): 167-71.
- SHIMIZU, H., ROSS, R. K., BERNSTEIN, L., YATANI, R., HENDERSON, B. E., MACK, T. M., 1991, Cancers of the prostate and breast among Japanese and white immigrants in Los Angeles county, *Br. Journal Cancer*, 63, 963-966.
- SHUAIB, A., MAHMOOD, R. H., WISHART, T., KANTHAN, R., MURABIT, M. A., IJAZ, S., 1995, Neuroprotective effects of lamotrigine in global ischemia in gerbils. A histological, *in vivo* microdialysis and behavioral study, *Brain Res.*, 702, 199-206.
- SITGES, M., CHIU, L. M., GUARNEROS, A., NEKRASSOV, V., 2007a, Effects of carbamazepine, phenytoin, lamotrigine, oxcarbazepine, topiramate and vinpocetine on Na⁺ channel-mediated release of [3H]glutamate in hippocampal nerve endings, *Neuropharmacology*, 52:598- 605.
- SITGES, M., GUARNEROS, A., NEKRASSOV, V., 2007b, Effects of carbamazepine, phenytoin, valproic acid, oxcarbazepine, lamotrigine, topiramate and vinpocetine on the presynaptic Ca⁺² channel-mediated release of [3H]glutamate: Comparison with the Na⁺ channel-mediated release, *Neuropharmacology*, 53:854-862.
- SMITH, P., RHODES, N. P., SHORTLAND, A. P., FRASER, S. P., DJAMGOZ, M. B. A., KE, Y., FOSTER C. S., 1998, Sodium channel protein expression enhances the invasiveness of rat and human prostate cancer cells, *FEBS Letters*, 423: 19-24.

SONN, G. A., ARONSON, W., LITWIN, M. S., 2005, Impact of diet on prostate cancer: a review, *Prostate cancer and prostatic diseases*, 8, 304-310.

STEFANI, A., PISANI, A., DE MURTAS, M., MERCURI, N. B., MARCIANI, M. G., CALABRESI, P., 1995, Action of GP 47779, the active metabolite of oxcarbazepine, on the corticostriatal system: II. Modulation of highvoltage- activated calcium currents, *Epilepsia*, 36, 997– 1002.

STEFANI, A., SPADONI, F., BERNARDI, G., 1997, Voltage-activated calcium channels: targets of antiepileptic drug therapy?, *Epilepsia*, 38, 959– 965.

STEFAN, H., FEUERSTEIN, T. J., 2007, Novel anticonvulsant drugs, *Pharmacology and Therapeutics*, 113, 165-183.

STEINER, T. J., DELLAPORTAS, C. I., FINDLEY, L. J., GROSS, M., GIBBERD, F. B., PWERKIN, G. D., 1999, Lamotrigine monotherapy in newly diagnosed untreated epilepsy: double-blind comparison with phenytoin, *Epilepsia*, 40 (5), 601–607.

STEINLEIN, O. K., 2004, Genetic mechanisms that underlie epilepsy, *Nat. Rev. Neurosci.*, 5:400–408.

TANAGHO, E. A., 2004, Embryology of the genitourinary system, *Smith's General Urology*, 16 Edition, New York, 18-30.

TECOMA, E. S., 1999, Oxcarbazepine, *Epilepsia*, 40 (suppl. 5), 37-46.

TENNANT, T. R., KIM, H. K., SOKOLOFF, M., RINKER-SCHAEFFER, C. W., 2000, The Dunning model, *The Prostate*, 43, (4), 295-302

TERLAU, H., STUHMER, W., 1998, Structure and function of voltage-gated ion channels, *Naturwissenschaften*, 85, 437-444.

TOPALKARA, K., AKYÜZ, A., SÜMER, H., BEKAR, D., TOPAKTAŞ, S., DENER, Ş., 1999, Sivas il merkezinde tabakalı örneklem yöntemiyle gerçekleştirilen epilepsi prevalans çalışması. *Epilepsi* 5(1): 24-9.

TROJNAR, M. K., MAEK, R., CHROOECINSKA, M., NOWAK, S., BASZCZYK, B., CZUCZWAR, S. J., 2002, Neuroprotective effects of antiepileptic drugs. *Pol. J. Pharmacol*, 54, 557–566

VAIL, M. D., MACEWEN, E. G., 2000, Spontaneously occurring tumors of companion animals as models for human cancer, *Cancer Investigation*, 18(8),781-792.

VERHAGEN, A. P., AALDERS, T. W., RAMAEKERS, F. C. S., DEBRUYNE, F. M. J., SCHALKEN J. A., 1988, Differential expression of keratins in the basal and luminal compartments of rat prostatic epithelium during degeneration and regeneration, *Prostate*, 13(1): 25-38.

- VLIESTRA, R., VAN ALEWIJK, D. C., HERMANS, K. G., VAN STEENBRUGGE, G. J., TRAPMAN, J., 1998, Frequent inactivation of PTEN in PCa cell lines and xenografts, *Cancer Res.*, 58(13), 2720-3.
- WALDMEIER, P. C., BAUMANN, P. A., WICKI, P., FELDTRAUER, J. J., STIERLIN, C., SCHMUTZ, M., 1995, Similar potency of carbamazepine, oxcarbazepine, and lamotrigine in inhibiting the release of glutamate and other neurotransmitters, *Neurology*, 45, 1907-13.
- WALSH, P. C., RETIK, A. B., STAMEY, T. A., VAUGHAN, E. D. WEIN, A. J., 2005, *Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia*, Campbell's Urology, 7. Ed., vol. 1, chapt. 3, 89-128.
- WAMIL, A. W., SCHMUTZ, M., PORTET, C., FELDMANN, K. F., MCLEAN, M. J., 1994, Effects of oxcarbazepine and 10-hydroxycarbamazepine on action potential firing and generalized seizures, *European Journal of Pharmacology*, 271(2-3), 301-308.
- WANG, S. J., HUANG, C. C., HSU, K. S., TSAI, J. J., GEAN, P. W., 1996, Presynaptic inhibition of excitatory neurotransmission by lamotrigine in the rat amygdalar neurons, *Synapse*, 24, 248-255.
- WEBER, G. F., 2007, *Molecular mechanisms of individual malignancies*, In: Molecular Mechanisms of Cancer, Section V, Springer, Netherlands, pp. 482-486.
- WENGER, A. S., MICKEY, D. D., HALL, M., SILVERMAN, L. M., MICKEY, G. H., FRIED, F. A., 1984, *In vitro* characterization of Mat-LyLu: a Dunning rat prostate adenocarcinoma tumor subline, *The Journal of Urology*, 131(6), 1232-6.
- WHITE, H. S., 1999, Comparative anticonvulsant and mechanistic profile of established and newer antiepileptic drugs, *Epilepsia*, 40, (suppl. 5), 2-10.
- WISTUBA, I., BEHRENS, C., VIRMANI, A., SYED, S., LAM, S., MACKAY, B., MINNA, J., GAZDAR, A., 1999, Allelic losses at chromosome 8p21-23 are early and frequent events in the pathogenesis of lung cancer, *Cancer Res.*, 59; 1973.
- WOODHOUSE, E. C., CHUAQUI, R. F., LIOTTA, L., 1997, General mechanisms of metastasis, *Cancer Supplement*, 80(8), 1529-37.
- WU, Z., YANG, Y., XIE, L., XIA, G., HU, J., WANG, S., ZHANG, R., 2005, Toxicity and distribution of tetrodotoxin-producing bacteria in puffer fish *Fugu rubripes* collected from the Bohai Sea of China, *Toxicon*, 46, (4), 471-476.
- XIE, X., LANCASTER, B., PEAKMAN, T., GARTHWAITE, J., 1995, Interactions of the antiepileptic drug lamotrigine with recombinant rat brain type IIA Na⁺ channels and native Na⁺ channels in rat hippocampal neurons, *Pflug. Arch.*, 430, 437-446.

- YAROV-YAROVY, V., BROWN, J., SHARP, E. M., CLARE, J. J., SCHEUER, T., CATTERALL, W., 2001, Molecular determinants of voltage-dependent gating and binding of pore-blocking drugs in transmembrane segment IIIS6 of the Na⁺ channel α subunit, *JBC papers*, 276(1), 20-27.
- YENİ, N., KARAAĞAÇ, N., 2005, Epilepsiler, *Nörolog olmayanlar için nöroloji sempozyum dizisi*, no:42, 159-175.
- YILDIRIM, S., 2007, *Tetrodotoksin'in sıçan prostat kanseri üzerine etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- YILDIRIM, S., FRASER, S. P., DISS, J. K. J., ALTUN, S., PATEL, A., DJAMGOZ, M. B. A., 2009, Pathobiology of prostate cancer: Voltage-gated sodium channel expression and metastatic potential, *Journal of Biology (IUFs)*, 68(1), 1-17.
- YILMAZ, H., MAVİOĞLU, H., TOSUN, C., OKUDUR, İ., 2000, Epilepsi olgularımızın demografik ve klinik özellikleri: poliklinik tabanlı bir çalışma., *Düşünen Adam*, 13(3): 180-4.
- YU, H., HARRIS, R. E., GAO, Y. T., GAO, R., WYNDER, E. L., 1991, Comparative epidemiology of cancers of the colon, rectum, prostate and breast in Shanghai, China versus the United States, *Int. Journal of Epidemiol.*, 20, 76-81.
- YU, F. H., CATTERALL, W. A., 2003, Overview of the voltage-gated sodium channel family, *Genome Biology*, 4, 207.
- ZAR, J. H., 1999, *Bioistatistical Analysis*, 4th ed., Prentice Hall International Inc., New Jersey.
- ZHENG, T., CLARKE, A. L., MORRIS, M. J., REID, C. A., PETROU, S., O'BRIEN, T. J., 2009, Oxcarbazepine, not its active metabolite, potentiates GABA_A activation and aggravates absence seizures, *Epilepsia*, 50, 83-87.
- ZIPP, F., BAAS, H., FISCHER, P. A., 1993, Lamotrigine-antiparkinsonian activity by blockade of glutamate release?, *J Neural Transm. Parkinsons Dis. Dement. Sect.*, 5, 67-75.
- ZONA, C., AVOLI, M., 1997, Lamotrigine reduces voltage-gated sodium currents in rat central neurons in culture, *Epilepsia* 38, 522-525.

ÖZGEÇMİŞ

09.07.1985 tarihinde İstanbul’da doğdum. Orta öğrenimimi 1996-2003 yılları arasında Üsküdar Çağrıbey Anadolu Lisesi’nde tamamladım. 2004 yılında, Erciyes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde lisans eğitimime başladım. 2006 yılında yatay geçiş ile geldiğim İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nden 2008 yılında mezun oldum. Aynı yıl, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Genel Biyoloji Programı’nda yüksek lisans eğitimime başladım.