



TAURİN, KAPSAİSİN, MELATONİN VE BETA KAROTENİN L929 SAĞLIKLI HÜCRELER VE MCF-7 MEME KANSERİ HÜCRELERİ ÜZERİNDEKİ ANTİPROLİFERATİF, ANTİMİGRASYON VE ANTİOKSİDAN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

THE INVESTIGATION OF THE ANTIPROLIFERATIVE, ANTIMIGRATION AND ANTIOXIDANT EFFECTS OF TAURINE, CAPSAICIN, MELATONIN AND BETA CAROTEN ON L929 HEALTHY CELLS AND MCF-7 BREAST CANCER CELLS

Hande YÜCE¹ , Neşe Başak TÜRKMEN¹ , Dilan Aşkın ÖZEK^{1,2} , Songül ÜNÜVAR^{1*} 

¹İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı, 44000, Malatya, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Kovancılar Meslek Yüksekokulu, Eczane Hizmetleri Bölümü, 23000, Elazığ, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışmanın amacı, taurin, kapsaisin, melatonin ve beta karoten gibi antioksidan maddelerin insan meme kanseri ve sağlıklı fibroblast hücreleri üzerindeki antiproliferatif, antimigrasyon ve antioksidan aktivitelerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada, taurin, kapsaisin, melatonin ve beta karoten L929 sağlıklı fibroblast hücrelerine ve MCF-7 meme kanseri hücrelerine uygulandı. Bileşiklerin antiproliferatif etkisi, MTS [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-karboksimetoksifenil)-2-(4sülfopenil)-2H-tetrazolyum] testi ile 24. ve 48. saatte belirlendi. Hücreler, Dulbecco'nun Modifiye Eagles Ortamı (DMEM) içinde kültürlendi ve ardışık iki gün boyunca farklı konsantrasyonlarla işleme tabi tutuldu. Bileşiklerin hücre göçü üzerindeki etkisi, yara iyileşme deneyi kullanılarak 24. saatte değerlendirildi. Yara iyileşme testi, hücrelerin in vitro metastatik kabiliyetini ölçmek için kullanıldı. Total antioksidan seviyeleri (TAS) ve total oksidan seviyeleri (TOS) ticari kitler kullanılarak belirlendi.

Sonuç ve Tartışma: Tüm bileşikler sağlıklı hücelere kıyasla, malign hücrelerde hücre canlılığını konsantrasyona ve zamana bağlı bir şekilde azaltmıştır. Yara kapanma alanının sonuçları, bileşiklerle tedavinin, yara kapanmasını önemli ölçüde hızlandıran hücresel göçü iyileştirdiğini göstermiştir. Sonuçlar, tüm

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Songül Ünüvar
e-posta / e-mail: songul.unuvar@inonu.edu.tr, Tel. / Phone: +905062454054

bileşiklerin, 48 saatte MCF-7 hücre hatlarının göç kabiliyetini belirgin şekilde inhibe ettiğini gösterdi. Tüm bileşikler antioksidan etki göstermekle birlikte, MCF-7 hücreleri üzerine hemen hemen tüm dozlarda antioksidan etki gösteren bileşiğin beta karoten olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beta karoten, kapsaisin, melatonin, meme kanseri, taurin

ABSTRACT

Objective: *The aim of this study was to evaluate the antiproliferative, antimigration and antioxidant activities of antioxidant substances such as taurine, capsaicin, melatonin and beta carotene on human breast cancer cells.*

Material and Method: *In this study, taurine, capsaicin, melatonin and beta carotene L929 were applied to healthy fibroblast cells and MCF-7 breast cancer cells. The antiproliferative effect of the compounds was determined by the MTS [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4sulphophenyl)-2H-tetrazolium] test at 24 and 48 hours. Cells were cultured in Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM) and treated with different concentrations for two consecutive days. The effect of compounds on cell migration was evaluated at 24 hours using the wound healing assay. The wound healing test was used to measure the in vitro metastatic ability of cells. Total antioxidant levels (TAS) and total oxidant levels (TOS) were determined using commercial kits.*

Result and Discussion: *All compounds decreased cell viability in malignant cells in a concentration- and time-dependent manner compared to healthy cells. The results of the wound closure area showed that treatment with the compounds improved cellular migration, which significantly accelerated wound closure. The results showed that all compounds markedly inhibited the migratory ability of MCF-7 cell lines at 48 hours. Although all compounds showed antioxidant effects, beta carotene was observed to have antioxidant effects on MCF-7 cells at almost all doses.*

Keywords: Beta carotene, breast cancer, capsaicin, melatonin, taurine

GİRİŞ

Küresel bir halk sağlığı sorunu olan meme kanseri tüm dünyada en sık görülen kadın kanseridir. Kadınlarda yüksek mortalite ile ilişkili olarak, önde gelen kansere bağlı ölüm nedenlerinden birisidir [1]. Hastalar için ileri meme kanseri tedavileri, adjuvan hormon tedavisi, kemoterapi veya radyoterapi uygulanır. Birçok kemoterapötik ilaç hızla çoğalan hücreleri hedefler; bununla birlikte, kemik iliği, bağırsak mukozası, ağız mukozası, kıl folikülleri ve gonadlar gibi hızla çoğalan normal dokular üzerinde de aynı etkiye sahiptirler. Bu nedenle, sağlıklı hücreleri etkilemeden kanser hücrelerini öldürmek için etkili bir yöntem bulmak önemlidir [2].

Fitokimyasalların, kanser tedavisi ilaçları kadar antioksidan ve kanser önleyici etkilere de sahip olduğu iyi bilinmektedir. Bu biyoaktif maddelerin çoğunun, hücre döngüsü ilerlemesini bloke ederek ve tümör hücresi apoptozunu tetikleyerek antikanser etkiler sergiledikleri rapor edilmiştir [3].

Kapsaisin (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamid), acı biberin etken maddesidir [4]. Kapsaisin, gıda katkı maddesi ve ilaç olarak uzun süredir kullanılmaktadır [5]. Birçok kanser hücre hattında antikarsinojenik, antimutajenik ve kemopreventif etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Kapsaisinin tahriş edici ve keskin özelliği nedeniyle tümörleri indüklediği düşünülmektedir [4,5]. Karsinogenez üzerindeki etkilerine ilişkin hayvan çalışmalarından elde edilen raporlarda, kapsaisinin kendisinin mutajenik olduğu ve tümör oluşumunu desteklediği bildirilmiştir [4]. Kapsaisinin, in vitro olarak transforme olan

hücre tiplerinde büyümeyi inhibe ettiği ve apoptozu indüklediği, ancak normal hücrelerde bu etkiyi göstermediği bulunmuştur [5].

Beta karotenin anti-kanserojen ve antioksidan özellikleri bilinmesine rağmen, son zamanlardaki birkaç epidemiyolojik ve deneysel çalışmada yüksek konsantrasyonlarda (30 mg/gün) pro-oksidan gibi davrandığı ve kansere neden olduğu gösterilmiştir [6]. In vitro deneyler ayrıca, beta karotenin düşük dozlarda (6 mg/gün) insan kanser hücrelerinde antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikler sergilediğini, yüksek dozlarda ise pro-oksidan ve pro-inflamatuvar etkiler gösterdiğini doğrulamaktadır [7]. Beta karoten, birçok insan kanser hücre hattının büyümesini inhibe ederek hücre döngüsünün durmasını ve apoptozu indükler. Beta karotenin, hücre döngüsü ilerlemesinin önemli bir düzenleyicisi olan siklin A'nın azaltılmasından sorumlu olduğu bildirilmiştir [6-8]. İn vitro çalışmalar, bu karotenoidin prostat ve melanom dahil olmak üzere bazı kanser türlerine karşı kemopreventif veya kemoterapötik olduğu hipotezini desteklemektedir [8].

İnsanlarda en çok bulunan serbest amino asit olan Taurin (Tau), antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri sayesinde sayısız potansiyel sağlık yararına sahiptir. Bununla birlikte, sınırlı çalışmalar tümörler üzerindeki etkisini değerlendirmiştir ve antitümör mekanizması bilinmemektedir [9]. Genellikle taurin olarak bilinen amino asit 2-aminoetansülfonik asit, bir tiyol grubu içeren basit bir kimyasal yapıya sahiptir. Taurin, toplam insan vücut ağırlığının <math><0,1\%</math>ini oluşturur ve tüm organlarda serbest formda bulunur [10].

Melatonin; antioksidan, immünomodülatör ve yaşlanma karşıtı özellikleri sayesinde sirkadiyen ritimlerin düzenlenmesinden tümör inhibisyonuna kadar farklı fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Pleiotropik fonksiyonları nedeniyle, melatoninin normal hücrelerde sitoprotektif süreçleri ortaya çıkardığı ve kanser hücrelerinde proapoptotik sinyalleri tetiklediği gösterilmiştir [11].

Bu çalışmada, kapsaisin, β -karoten, taurin ve melatonin uygulamasının sağlıklı hücre hattı vememe kanseri hücre hattı üzerindeki antiproliferatif, antimigrasyon ve antioksidan etkilerini araştırdık. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız bu dört bileşiğin antikanser ve antioksidan aktivitelerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği ilk çalışmadır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Hücre Kültürü

İnsan meme kanseri hücreleri (MCF-7) ve sağlıklı fare fibroblast hücreleri (L929) Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu'ndan (ATCC) temin edildi. L929 ve MCF-7 hücreleri 25 cm²'lik flasklarda, %10 Fetal sığır serumu, %1 Penisilin/Streptomisin içeren DMEM (Sigma Chemical Co.) kullanılarak, 37°C, %5 kısmi CO₂ basıncı ve nemli ortam içeren inkübatörler içerisinde yetiştirildi. Hücreler, tripsin-EDTA (% 0.25) ile haftada 2-3 kez pasajlandı ve fosfat tamponlu salin (PBS) ile yıkandı. Hücreler 1500 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve DMEM içinde istenen konsantrasyona yeniden süspanse edildi. Kapsaisin,

beta karoten, taurin ve melatonin sırasıyla (Alfa-Aesar (Cas: 404-86-4), Fluka Analytical (Cas: 7235-40-7), Carl Roth (Cas: 107-35-7), Merck (Cas: 73-31-4) firmalarından temin edildi. Stok solüsyonları dimetil sülfoksit (DMSO) içinde hazırlanarak, 1 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM konsantrasyonlara seyreltildi.

Sitotoksisite Deneyi

Hücrelerin yaşaması ve proliferasyonu, MTS testi ile kantitatif ve kolorimetrik olarak belirlendi. MTS testinin yapılması için MCF-7 ve L929 hücreleri 96 kuyucuklu plakalar içerisine 24 saat önceden 5000 hücre/kuyu olacak şekilde 100 µL besi ortamı içerisine ekildi. 24 saat sonra kapsaisin, beta karoten, taurin ve melatonin 1 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM konsantrasyonlarda 96 kuyucuklu plakalar içerisinde yer alan hücrelere uygulanarak 24 ve 48 saat boyunca 37°C, %5 kısmi CO2 basıncı ve nemli ortam içeren inkübatörler içerisinde inkübe edildi. Ardından her bir kuyucuğa 10 µL MTS solüsyonu ilave edildi. Plaklar MTS solüsyonu ilavesini takiben 3 saat inkübe edildi. İnkübasyonun ardından besi ortamı uzaklaştırılarak kuyucuklara 100 µL %20'lik DMSO ilave edildi ve 20 dakika daha inkübasyona bırakıldı. Ardından ELISA mikropalak okuyucu ile (BioTek Instruments, Inc. Winooski, Vermont, ABD) 450nm'de absorbans ölçülerek değerlendirildi. Kapsaisin, beta karoten, taurin ve melatonin için her bir konsantrasyon 4 tekrarlı olarak çalışıldı. Elde edilen veriler aşağıda belirtilen formül kullanılarak her bir grup için hücre canlılığının %50 inhibe olduğu dozlar (IC50) kapsaisin, beta karoten, taurin ve melatonin uygulanmış olan hücrelerde ayrı ayrı belirlendi.

% Hücre canlılık oranı = $(A_{\text{test}} - A_{\text{ablank}} / A_{\text{kontrol}} - A_{\text{ablank}}) \times 100$ [12].

Wound Healing (Yara İyileşme) Testi

Yara iyileşme testi hücre etkileşimi ve migrasyonunun belirlendiği bir testtir. 12 kuyucuklu plakalara 1 ml içinde 10.000 hücre olacak şekilde hüce ekimi yapıldı. 24 saat standart inkübasyondan (%5 CO2, 37°C) sonra, 200µl'lik pipet ucu ile kuyucuğun ortasından saat 12 yönünden başlayarak saat 6 yönüne düz bir çizgi çizildi. Sonrasında kuyucuklardaki vasat çekilip taze medyum ile birkaç kez yıkama yapıldı. Daha sonra hücreler belirtilen konsantrasyonlarda (1 µM, 10 µM, 25 µM, 50 µM, 100 µM) kapsaisin, beta karoten, taurin ve melatonin ile muamele edildi. Yara iyileşme oranı 0, 24 ve 48 saatlik inkübasyondan sonra ters ışık mikroskobu ile değerlendirildi [13].

Hücre Lizisi

T-75 flaksta konfluent olan hücreler tripsin-EDTA ile kaldırıldı. 6 kuyucuklu plakalara her kuyucukta 1.000.000 hücre olacak şekilde ekildi ve 37°C de %5 CO2 de 24 saat inkübasyona bırakıldı. MCF-7 ve L929 hücre hatları kapsaisin, beta karoten, taurin ve melatoninin 1, 10, 25, 50, 100 µM konsantrasyonları ile muamele edildi. 48 saat sonunda hücreler soğuk PBS yardımıyla kazınarak 6 kuyucuklu plakalardan kaldırıldı. PBS de süspand halde olan hücreler 4°C de 5 dk 10.000 g de santrifüj edildi. Süpernatantlar atıldı ve pellet üzerine 500 µL lizis buffer (RIPA Buffer, Abcam, #ab156034)

eklendi. 40 dakika buzda inkübe edildi. İnkübasyon sürecinde hücreler 5 dakika aralıklarla 40 dakika boyunca vortekslendi. Sonrasında tüpler 4°C'de 30 dk 10.000 g de santrifüj edildi. Süpernatantlar alındı. -20°C'de TAS ve TOS analizi için muhafaza edildi [14].

TOS Analizi

Hücre lizatının TOS analizi, ticari kitler (REL Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak yapıldı. Numunede bulunan oksidanlar, demir iyonu-şelatör kompleksini demir iyonuna oksitler. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan oksidan moleküllerinin toplam miktarı ile ilgilidir. Testin kalibrasyonu için H₂O₂ kullanıldı. Sonuçlar litre başına mikromolar H₂O₂ eşdeğerine ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$) göre verildi [15].

TAS Analizi

Hücre lizatının TAS analizi, ticari kitler (REL Assay Diagnostics, Gaziantep, Türkiye) kullanılarak yapıldı. Antioksidanlar koyu mavi-yeşil 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS•+) radikalini renksiz indirgenmiş ABTS formuna indirger. 660 nm'de absorpsiyon değişimi toplam antioksidan seviyesi ile ilişkilendirilmiştir. Test, Trolox eşdeğeri olarak adlandırılan stabil bir antioksidan standart solüsyonu, yani bir E vitamini analogu kullanılarak kalibre edildi [16].

Oksidatif Stres İndeksinin (OSI) Hesaplanması

Oksidatif stres indeksi, TOS seviyesinin TAS seviyesine oranı olarak tanımlandı. Spesifik olarak, OSI (arbitrary unit) = TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L}$)/TAS ($\mu\text{mol Trolox Eq/L}$)X100 [15].

İstatistiksel Analiz

Yara iyileşmesini analiz etmek için Imagej programı kullanıldı. Hücre canlılığı ve yara iyileşmesi % olarak ifade edildi. Tanımlayıcı veriler SPSS 22.0 paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, Amerika Birleşik Devletleri) kullanılarak analiz edildi. Yara iyileşmesindeki istatistiksel farklılıklar, iki yönlü varyans analizi kullanılarak hesaplandı. IC₅₀ değerleri GraphPad Prism 8 programı kullanılarak hesaplandı. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bileşiklerin farklı dozlarda uygulanmasından sonra MCF-7 hücre canlılığı üzerindeki etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir. Tüm bileşikler, konsantrasyon ve zamana bağlı olarak kanser hücre hatları üzerinde antiproliferatif etki göstermiştir. 24. saat verileri değerlendirildiğinde kapsaisin sağlıklı hücelere (181.7 μM) kıyasla MCF-7 hücre hattı üzerinde daha düşük dozda (104 μM) hücre canlılığını inhibe ettiği bulundu. Beta karotenin de sağlıklı fibroblastlara (201.2 μM) kıyasla MCF-7 hücreleri üzerinde hücre canlılığını daha düşük dozda (129.8 μM) etkilediği bulundu. Melatoninin etki dozları beta karotene benzer olarak kanser hücrelerinin (130.1 μM) hücre canlılığını sağlıklı hücelere (201 μM)

kıyasla düşük dozda etkiledi. Taurinin IC₅₀ değerleri L929 ve MCF-7 hücrelerinde sırasıyla 200.6 µM ve 118.9 µM bulundu (Tablo 1).

48. saat verileri değerlendirildiğinde kapsaisinin sağlıklı hücelere (201.3 µM) kıyasla MCF-7 hücre hattı üzerinde daha düşük dozda (137 µM) hücre canlılığını inhibe ettiği bulundu. Beta karotenin de sağlıklı fibroblastlara (200.1 µM) kıyasla MCF-7 hücreleri üzerinde hücre canlılığını daha düşük dozda (123.3 µM) etkilediği bulundu. Melatoninin etki dozları beta karotene benzer olarak kanser hücrelerinin (124.7 µM) hücre canlılığını sağlıklı hücelere (198.6 µM) kıyasla düşük dozda etkiledi. Taurinin IC₅₀ değerleri L929 ve MCF-7 hücrelerinde sırasıyla 201.7 µM ve 138.8 µM bulundu (Tablo 1).

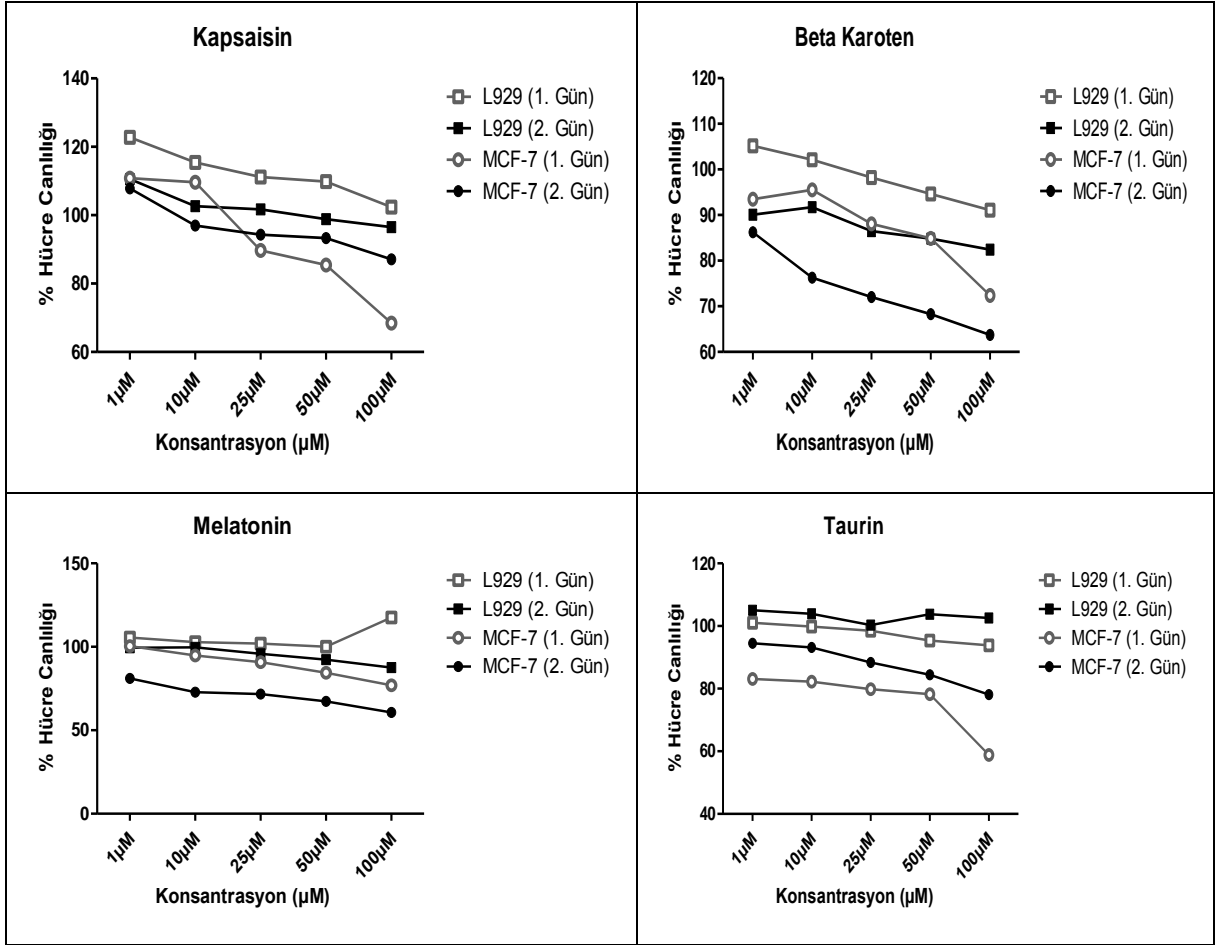
Tablo 1. Kapsaisin, beta karoten, melatonin ve taurinin sağlıklı ve kanser hücre hatlarında 24. ve 48. saatlerdeki IC₅₀ değerleri.

24. saat			48. saat		
IC ₅₀ (µM)	L929	MCF-7	IC ₅₀ (µM)	L929	MCF-7
Kapsaisin	181.7	104	Kapsaisin	201.3	137
Beta karoten	201.2	129.8	Beta karoten	200.1	123.3
Melatonin	201.0	130.1	Melatonin	198.6	124.7
Taurin	200.6	118.9	Taurin	201.7	138.8

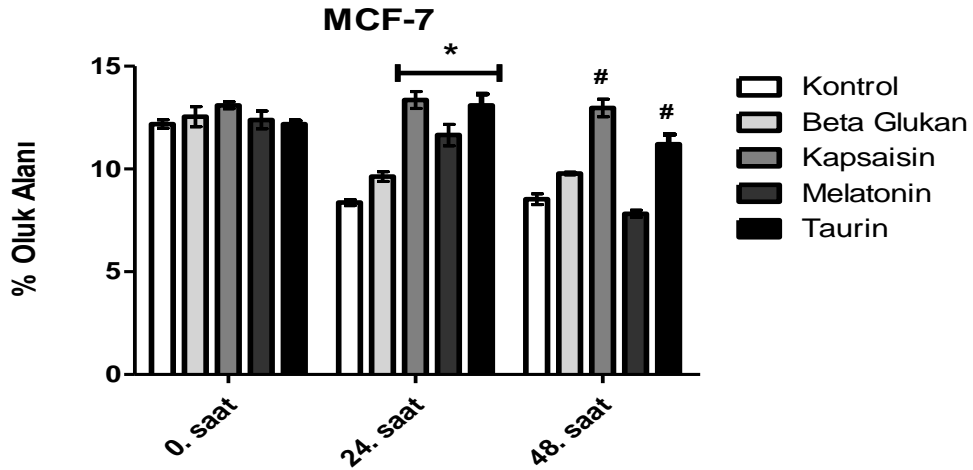
Kapsaisin, beta karoten, melatonin ve taurinin hücre göçü üzerindeki etkisini belirlemek için bir yara iyileşme deneyi yapıldı. Yara iyileşmesi sonuçlarında ilk 24 ve 48 saatte açılan yarıkların en düşük düzeyde iyileştiği ve hücrelerin migrasyon yeteneğinin kısıtlandığı görüldü. Yara kapanma alanının sonuçları, bileşiklerle tedavinin, yara kapanmasını önemli ölçüde hızlandıran hücresel göçü iyileştirdiğini göstermiştir (Şekil 2).

Sonuçlar, tüm bileşiklerin, 48 saatte MCF-7 hücre hatlarının göç kabiliyetini belirgin şekilde inhibe ettiğini gösterdi. Sağlıklı hücelere kıyasla MCF-7 hücre hattı üzerine 24. saatte kapsaisin (%159.5), beta karoten (%114.3), melatonin (%139.3) ve taurin (%155.9) oranında inhibe etmiştir. 48. saatte ise kapsaisin (%151.8), beta karoten (%115.3) ve taurin (%131.7) oranında, MCF-7 hücreleri üzerine etkili bulundu (Şekil 2).

Bileşiklerin sağlıklı hücelere kıyasla kanser hücreleri üzerindeki antioksidan aktivitesi Tablo 2'de verilmiştir. Kapsaisin sağlıklı hücelere kıyasla 10 µM dozda, beta karoten 1 µM, 10 µM, 25 µM ve 50 µM dozlarda melatonin 25 µM ve 100 µM dozlarda, taurin ise 1 µM ve 25 µM dozlarda MCF-7 hücre hattı üzerinde antioksidan aktivite göstermiştir. MCF-7 hücreleri üzerine hemen hemen tüm dozlarda antioksidan etki gösteren bileşiğin beta karoten olduğu gözlenmiştir. Beta karotenin düşük dozlarda antioksidan yüksek dozlarda prooksidan olduğunu öne süren önceki çalışmalarla [6,7] sonuçlarımız uyumlu bulunmuştur.



Şekil 1. Kapsaisin, beta karoten, melatonin ve taurinin sağlıklı ve kanser hücre hatlarında hücre canlılığı üzerine etkileri.



Şekil 2. Kapsaisin, beta karoten, melatonin ve taurinin sağlıklı ve kanser hücre hatları üzerine antimigrasyon etkileri. (*: Kontrol grubuna kıyasla 24. saatte anlamlı farklılık, #: Kontrol grubuna kıyasla 48. saatte anlamlı farklılık).

Tablo 2. TOS, TAS, OSI değerleri

		L929	MCF7			L929	MCF7
Kapsaisin 1 µM	TOS	7.169	4.037	Melatonin 1 µM	TOS	0.867	6.792
	TAS	0.205	0.110		TAS	0.259	0.070
	OSI	3.497	3.670		OSI	0.334	9.702
Kapsaisin 10 µM	TOS	7.584	6.528	Melatonin 10 µM	TOS	5.207	8.679
	TAS	0.196	0.186		TAS	0.705	0.413
	OSI	3.869	3.509		OSI	0.738	2.101
Kapsaisin 25 µM	TOS	1.471	6.716	Melatonin 25 µM	TOS	8.566	4.754
	TAS	0.181	0.355		TAS	0.168	0.932
	OSI	0.813	1.891		OSI	5.099	0.510
Kapsaisin 50 µM	TOS	0.754	5.547	Melatonin 50 µM	TOS	1.433	8.566
	TAS	0.586	0.145		TAS	0.179	0.199
	OSI	0.128	3.825		OSI	0.801	4.304
Kapsaisin 100 µM	TOS	0.528	5.622	Melatonin 100 µM	TOS	15.207	7.132
	TAS	0.355	0.303		TAS	0.194	0.816
	OSI	0.149	1.855		OSI	7.838	0.874
Beta karoten 1 µM	TOS	9.132	0.188	Taurin 1 µM	TOS	12.264	0.981
	TAS	0.609	0.582		TAS	0.194	0.513
	OSI	1.499	0.032		OSI	6.321	0.191
Beta karoten 10 µM	TOS	7.358	0.981	Taurin 10 µM	TOS	3.245	12.452
	TAS	0.460	0.417		TAS	0.145	0.186
	OSI	1.599	0.235		OSI	2.237	6.694
Beta karoten 25 µM	TOS	1.207	0.830	Taurin 25 µM	TOS	4.113	10.490
	TAS	0.049	0.526		TAS	0.088	0.230
	OSI	2.463	0.157		OSI	4.673	4.560
Beta karoten 50 µM	TOS	4.981	5.698	Taurin 50 µM	TOS	5.584	10.037
	TAS	0.019	0.068		TAS	0.504	0.370
	OSI	26.215	8.379		OSI	1.107	2.712
Beta karoten 100 µM	TOS	0.603	12.339	Taurin 100 µM	TOS	6	6.641
	TAS	0.348	0.183		TAS	0.422	0.117
	OSI	0.173	6.742		OSI	1.421	5.676

Son çalışmalar, sistemik taurin düzeylerindeki değişikliklerin, belirli tümörlerin oluşumunu ve malign transformasyonunu tahmin etmek için kullanılabileceğini öne sürmüştür. Meme kanserli hastalarda serum taurin düzeyi, yüksek riskli meme kanseri grubundaki veya sağlıklı kontrol grubundaki hastalara göre önemli ölçüde daha düşük bulunmuştur. Bu nedenle, taurin meme kanserinin erken teşhisi için yeni bir biyobelirteç olarak kabul edilebilir [17,10]. Taurinin, sıçanlarda dimetilbenzantrasin kaynaklı meme kanseri üzerinde engelleyici bir etki gösterdiği bulunmuştur; ayrıca taurinin kolorektal ve meme kanseri hücrelerinde apoptozu indükleyebildiği ve proliferasyonu baskılayabildiği de gösterilmiştir [18]. Okamoto ve ark. [19] kanserojen olarak dietilnitrozamin ve tümör destekleyici olarak fenobarbital ile erkek F344 sıçanlarda oluşturulan karaciğer kanserinde taurinin kimyasal kaynaklı tümör oluşumuna karşı koruyucu bir etki gösterdiğini bildirmiştir. Nude farelerde S180 ksenograft tümörleri taurin ile tedavi edildiğinde, apoptozun belirgin şekilde arttığı ve anti-apoptotik protein Bcl-

2'nin düzeyleri azalırken, pro-apoptotik protein Bax düzeylerinin arttığı gözlenmiştir [20]. Taurin ayrıca matriks metalloproteinaz-2 ekspresyonunu aşağı regüle edebilir ve N-asetil galaktosaminil transferaz 2 ekspresyonunu yukarı regüle ederek glioma hücrelerinin potansiyel istilasını ve metastazını baskılayabilir [21].

Yapılan çalışmalar, acı biber tüketiminin insanlarda kanser riskini artırabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, diğer araştırmacılar, kapsaisinin, apoptotik indüksiyon yoluyla ölümsüzleştirilmiş veya habis hücrelerin büyümesini inhibe etme üzerindeki *in vitro* etkisini göstererek, kapsaisinin antikanserojenik ve anti-mutajenik aktivitelere sahip olduğunu göstermektedirler [22,23]. Ancak normal hücrelerde kapsaisin büyük ölçüde etkisizdir [24]. Kapsaisinin insan meme kanseri MCF-7 hücrelerinde kaspaz-3'ü içermeyen kaspaz bağımlı bir yol aracılığıyla apoptozu indüklediği gösterilmiştir [4]. Bununla birlikte, şu anda insan meme kanseri hücrelerinde kaspazdan bağımsız yol ile kapsaisin kaynaklı apoptoz arasındaki ilişki hakkında net bir bilgi bulunmamaktadır. Doğal polifenollerin sağlık üzerinde faydalı etkileri olduğu bilinmektedir. Bu bileşikler, antioksidan aktivitelerinden dolayı araştırmalara konu olmuştur. Antioksidan aktivitesine ek olarak, kapsaisin MCF-7 hücrelerinde ROS (reaktif oksijen türleri) üretimi olmaksızın mitokondriyal yol aracılığıyla da apoptozu indüklemektedir [25]. Düşük dozlarda kapsaisinin toksisitesi minimumdur. Bununla birlikte, kapsaisinin biyotransformasyonla mutajenik veya kanserojen bir forma dönüştüğü öne sürülmüştür. Kapsaisinin toksisitesini açıklamak için birkaç metabolik mekanizma araştırılmıştır. Bunlar arasında elektrofilik epoksit üretimi, bir fenoksi radikali veya O-demetilasyon ve semikinon ve kinon türevleri üretmek için oksidasyon sayılabilir [26]. Kapsaisin, deneysel karsinogenez ve mutajenez üzerindeki etkileri nedeniyle birçok araştırmacı tarafından test edilmiştir. Literatürdeki veriler, kapsaisinin kanserojenik ve mutajenik süreçler üzerinde ikili etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Şu anda, deney hayvanları ile yapılan erken araştırmaların sonuçları, bu bileşiğin orta derecede tümörjenitesini göstermesine rağmen, kırmızı ve acı biberlerin veya bunların başlıca keskin içerikli içeriği olan kapsaisinin insanlarda kanserojen olduğuna dair sağlam bir kanıt yoktur. Buna karşılık, son çalışmalar kapsaisinin önemli antijenotoksik ve antikanserojenik etkilerini ortaya koymaktadır. Bu bileşiğin potansiyel bir kemopreventif aktiviteye sahip bir başka önemli diyet fitokimyasalı olduğunu düşündürmektedir. Kapsaisin sinir, kardiyovasküler, solunum, termoregülatuar ve gastrointestinal sistemler üzerinde etkilere sahiptir. Duyusal sinir iletimini incelemek için bir nörokimyasal araç olarak kullanılmıştır. *In vitro* ve hayvan çalışmalarında kapsaisin infüzyonunun (200 mg/kg, intravenöz yolla) pentobarbiton ile anestezi uygulanmış sıçanların adrenal medullasında doza bağlı katekolamin salgısını (adrenalin, noradrenalin) uyardığı bildirilmiştir. Kapsaisin meme kanseri hücrelerine karşı belirgin antiproliferatif etkiler göstermektedir. Kapsaisin, östrojen reseptörü (ER)-pozitif (MCF-7, T47D, BT-474) ve ER-negatif (SK-BR-3, MDA-MB-231) meme kanseri hücre hatlarının büyümesini inhibe etmektedir [27].

In vitro deneylerde, düşük dozlarda beta karotenin insan vücudunda antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler sergilediği, yüksek dozlarda ise kanser hücrelerinde, pro-oksidan ve proinflamatuvar etkiler gösterdiği bulunmuştur. Çalışmalar ayrıca, daha yüksek konsantrasyonlarda beta karotenin, hücre sinyalizasyonu için gerekli olan canlı sistemlerde oksidasyon ve antioksidasyon arasındaki dengeyi değiştirebileceğini göstermiştir [28]. Spesifik karotenoidlerin meme kanserine karşı koruyucu bir faktör olarak hareket edebileceği ile ilişkili birkaç mekanizma vardır. Bağışıklık fonksiyonunun güçlendirilmesi, hücrelerin DNA hasarına karşı korunması, hücrelerarası iletişimin uyarılması, detoksifiye edici enzimlerin indüklenmesi ve hücresel proliferasyonun inhibisyonu üzerindeki genel etkilerinin yanı sıra, ayrıca spesifik aktiviteleri olduğu da gösterilmiştir [29]. Beta karoten, nükleer transkripsiyon faktör kappa B (NF-Kb)'nin redoks regülasyonu yoluyla kanser hücrelerinde büyüme-inhibitör ve pro-apoptotik etkileri kontrol edebilir [30]. Bazı çalışmalar, karotenoid alımı ile meme kanseri riski arasındaki ilişkinin östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) durumuna göre sınıflandırıldığını bildirmiştir [31]. Yapılan bir çalışmada diyetle α -karoten, β -karoten ve lutein/zeaksantin alımının ER(-) meme kanseri riskini düşürdüğü, ancak ER(+) meme kanseri riski ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir [32].

Melatonin, N-asetil-5-metoksitriptamin, epifiz bezi, deri, kemik iliği ve retina gibi çeşitli organlarda üretilen bir hormondur. Melatonin sirkadiyen ritim düzenlemesi, mevsimsel değişimler, uyku periyodu, üreme ve kardiyovasküler fonksiyonlar gibi çeşitli fizyolojik süreçleri içerir [33]. Melatonin ayrıca bağışıklık ve hematopoetik sistemleri de düzenler. Melatoninin meme karsinogenezinde onkostatik ve antiproliferatif etkileri olduğu ve ayrıca MCF-7 hücrelerinde p53 ve p21 ekspresyonunu artırarak apoptotik yolu indüklediği bildirilmiştir [34]. Melatonin, aracı metabolizma ve kanserin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. MCF-7 hücrelerinde melatonin ve retinoik asidin birlikte kullanımının, TGF β 1 (dönüştürücü büyüme faktörü β 1) ve Bcl2'nin azalmış ekspresyonu ile tutarlı bir şekilde RARa'nın (retinoik asit reseptörü) aktivasyonu yoluyla MCF-7 meme kanseri hücrelerinde apoptozu teşvik edebildiği ve pro-apoptotik protein Bax'ın ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur [11]. Melatonin ve retinoik asidin birlikte uygulanmasının, sıçanlarda NMU (N-nitroso-N-metilüre) ile indüklenen meme tümörlerinin gelişimini %90'ın üzerinde bir oranda inhibe edebildiği gösterilmiştir [35]. İnsan neoplazmalarında bir adjuvan olarak melatoninin değerini değerlendirmek için çeşitli klinik deneyler yapılmış ve kemoterapötik ajanlarla birlikte kullanıldığında melatoninin birçok yararlı etkisi ortaya çıkmıştır. Kemoterapinin, kanser hastalarına melatonin ile birlikte uygulandığında daha iyi tolere edildiği gözlenmiştir [36].

Bu çalışmamızda metastatik olmayan MCF-7 meme kanseri hücre hattının ve L929 sağlıklı fibroblast hücre hattının kapsaisin, beta karoten, melatonin ve taurin ile muamelesi sonucunda hücre canlılığında, hücre migrasyonunda ve antioksidan/oksidan seviyelerinde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda yapılan uygulamaların neticesinde bileşiklerin kanser hücre

hattında sağlıklı hücre hattına kıyasla hücre canlılığını daha düşük dozlarda azalttıkları tespit edilmiştir. Yara iyileşmesi üzerindeki etkileri incelendiğinde ilk 24 ve 48 saatte açılan yarıkların en düşük düzeyde iyileştiği ve hücrelerin migrasyon yeteneğinin kısıtlandığı görülmüştür. Sonuçlar, kapsaisin, beta karoten, melatonin ve taurin ile muamelenin, yara kapanmasını önemli ölçüde hızlandıran hücresel göçü iyileştirdiğini göstermiştir. Tüm bileşiklerin farklı dozlarda antioksidan aktivite gösterdiği ancak, MCF-7 hücreleri üzerine hemen hemen tüm dozlarda antioksidan etki gösteren bileşiğin beta karoten olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçların yeni ve farklı kombinasyon denemeleri yapılması açısından literatüre değerli ve önemli bilgiler sağlayacağı düşünülmektedir.

YAZARLARIN KATKISI

Kavram: S.Ü., N.B.T.; Tasarım: H.Y., N.B.T.; Denetim: S.Ü., N.B.T.; Kaynaklar: S.Ü.; Malzemeler: H.Y., D.A.Ö.; Veri Toplama ve/veya işleme: H.Y., D.A.Ö., N.B.T.; Analiz ve/veya yorumlama: D.A.Ö., S.Ü.; Literatür taraması: S.Ü.; Makalenin yazılması: S.Ü., H.Y.; Kritik inceleme: S.Ü., N.B.T.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

ETİK KURUL ONAYI

Yazarlar bu çalışma için etik kurul onayının zorunlu olmadığını beyan etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ginsburg, O., Bray, F., Coleman, M. P., Vanderpuye, V., Eniu, A., Kotha, S. R., Sarker, M., Huong, T. T., Allemani, C., Dvaladze, A., Gralow, J., Yeates, K., Taylor, C., Oomman, N., Krishnan, S., Sullivan, R., Kombe, D., Blas, M.M., Parham, G., Kassami, N., Conteh, L. (2017). The global burden of women's cancers: a grand challenge in global health. *Lancet (London, England)*, 389(10071), 847–860. [\[CrossRef\]](#)
2. Schirmacher, V. (2019). From chemotherapy to biological therapy: A review of novel concepts to reduce the side effects of systemic cancer treatment (Review). *International Journal of Oncology*, 54, 407-419.
3. Wang, H., Khor, T.O., Shu, L., Su, Z.Y., Fuentes, F., Lee, J.H., Kong, A.N. (2012). Plants vs. cancer: a review on natural phytochemicals in preventing and treating cancers and their druggability. *Anti-cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 12(10), 1281–1305. [\[CrossRef\]](#)

4. Chou, C.C., Wu, Y.C., Wang, Y.F., Chou, M.J., Kuo, S.J., Chen, D.R. (2009). Capsaicin-induced apoptosis in human breast cancer MCF-7 cells through caspase-independent pathway. *Oncology Reports*, 21(3), 665–671. [\[CrossRef\]](#)
5. Eghdami, A., Salehi, M.A., Babakhani, M. (2014). Determination of physicochemical properties of capsaicin and cytotoxic effect of capsicum extract in breast cancer (MCF7) cell line. *International Journal of Biosciences*, 4(8), 262-268.
6. Sowmya, S.G., Yogendra, P.K., Arpitha, H.S., Deepika, U.R., Nawneet, K.K., Mondal, P., Ganesan, P. (2017). β -carotene at physiologically attainable concentration induces apoptosis and down-regulates cell survival and antioxidant markers in human breast cancer (MCF-7) cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 436(1-2), 1-12. [\[CrossRef\]](#)
7. Yeh, S.L., Wang, H.M., Chen, P.Y., Wu, T.C. (2009). Interactions of b-carotene and flavonoids on the secretion of pro-inflammatory mediators in an in vitro system. *Chemico-Biological Interactions*, 179(2-3), 386-393. [\[CrossRef\]](#)
8. Gloria, N.F., Soares, N., Brand, C., Oliveira, F.L., Borojevic, R., Teodoro, A.J. (2014). Lycopene and beta-carotene induce cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cell lines. *Anticancer Research*, 34(3), 1377-1386. [\[CrossRef\]](#)
9. Zhang, X., Lu, H., Wang, Y., Liu, C., Zhu, W., Zheng, S., Wan, F. (2015). Taurine induces the apoptosis of breast cancer cells by regulating apoptosis-related proteins of mitochondria. *International Journal of Molecular Medicine*, 35(1), 218–226. [\[CrossRef\]](#)
10. Tu, S., Zhang, X.L., Wan, H.F., Xia, Y.Q., Liu, Z.Q., Yang, X.H., Wan, F.S. (2018). Effect of taurine on cell proliferation and apoptosis human lung cancer A549 cells. *Oncology Letters*, 15(4), 5473–5480. [\[CrossRef\]](#)
11. Gatti, G., Lucini, V., Dugnani, S., Calastretti, A., Spadoni, G., Bedini, A., Rivara, S., Mor, M., Canti, G., Scaglione, F., Bevilacqua, A. (2017). Antiproliferative and pro-apoptotic activity of melatonin analogues on melanoma and breast cancer cells. *Oncotarget*, 8(40), 68338–68353. [\[CrossRef\]](#)
12. Barltrop, J.A., Owen, T.C., Cory, A.H., Cory, J.G. (1991). 5-(3- carboxymethoxyphenyl)-2-(4,5-dimethylthiazolyl)-3- (4-sulfophenyl) tetrazolium, inner salt (MTS) and related analogs of 3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5- diphenyltetrazolium bromide (MTT) reducing to purple water-soluble formazans as cell-viability indicators. *Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters*, 1(11), 611-614. [\[CrossRef\]](#)
13. Liang, C.C., Park, A., Guan, J.L. (2007). In vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. *Nature Protocols*, 2(2), 329–333. [\[CrossRef\]](#)
14. Ammerman, N.C., Beier-Sexton, M., Azad, A.F. (2008). Growth and maintenance of Vero cell lines. *Current protocols in microbiology*, Appendix 4, Appendix–4E. [\[CrossRef\]](#)
15. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103–1111. [\[CrossRef\]](#)
16. Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 37(4), 277–285. [\[CrossRef\]](#)

17. El Agouza, I.M., Eissa, S.S., El Houseini, M.M., El-Nashar, D.E., Abd El Hameed, O.M. (2011). Taurine: A novel tumor marker for enhanced detection of breast cancer among female patients. *Angiogenesis*, 14(3), 321–330. [\[CrossRef\]](#)
18. Zhang, X., Lu, H., Wang, Y., Liu, C., Zhu, W., Zheng, S., Wan, F. (2015). Taurine induces apoptosis of breast cancer cells by regulating apoptosis-related proteins of mitochondria. *International Journal of Molecular Medicine*, 35(1), 218–226. [\[CrossRef\]](#)
19. Okamoto, K., Sugie, S., Ohnishi, M., Makita, H., Kawamori, T., Watanabe, T., Tanaka, T., Mori, H. (1996). Chemopreventive effects of taurine on diethylnitrosamine and phenobarbital-induced hepatocarcinogenesis in male F344 rats. *Japanese Journal of Cancer Research*, 87(1), 30–36. [\[CrossRef\]](#)
20. Wang, H.R. (2008). PhD Thesis. Experimental study of the effect of taurine on sarcoma 180(S180) in mices. Qingdao University, Qingdao, China.
21. Neary, P.M., Hallihan, P., Wang, J.H., Pfirrmann, R.W., Bouchier-Hayes, D.J., Redmond, H.P. (2010). The evolving role of taurolidine in cancer therapy. *Annals of Surgical Oncology*, 17(4), 1135–1143. [\[CrossRef\]](#)
22. Popescu, G.D.A., Scheau, C., Badarau, I.A., Dumitrache, M.D., Caruntu, A., Scheau, A.E., Costache, D.O., Costache, R.S., Constantin, C., Neagu, M., Caruntu, C. (2020). The effects of capsaicin on gastrointestinal cancers. *Molecules*, 26(1), 94. [\[CrossRef\]](#)
23. Zhang, R., Humphreys, I., Sahu, R.P., Shi, Y., Srivastava, S.K. (2008). In vitro and in vivo induction of apoptosis by capsaicin in pancreatic cancer cells is mediated through ROS generation and mitochondrial death pathway. *Apoptosis*, 13(12), 1465-1478. [\[CrossRef\]](#)
24. Popescu, G., Scheau, C., Badarau, I. A., Dumitrache, M. D., Caruntu, A., Scheau, A. E., Costache, D. O., Costache, R. S., Constantin, C., Neagu, M., Caruntu, C. (2020). The Effects of Capsaicin on Gastrointestinal Cancers. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(1), 94. [\[CrossRef\]](#)
25. Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., Mattei, J. (2018). The role of polyphenols in human health and food systems: A Mini-Review. *Frontiers in Nutrition*, 5, 87. [\[CrossRef\]](#)
26. Surh, Y.J., Lee, S.S. (1995). Capsaicin, a double-edged sword: toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life Sciences*, 56(22), 1845–1855. [\[CrossRef\]](#)
27. Fattori, V., Hohmann, M.S., Rossaneis, A.C., Pinho-Ribeiro, F.A., Verri, W.A. (2016). Capsaicin: Current understanding of its mechanisms and therapy of pain and other pre-clinical and clinical uses. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(7), 844. [\[CrossRef\]](#)
28. Bouayed, J., Bohn, T. (2010). Exogenous antioxidants--Double-edged swords in cellular redox state: Health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228–237. [\[CrossRef\]](#)
29. Cooper, D.A., Eldridge, A.L., Peters, J.C. (1999). Dietary carotenoids and certain cancers, heart disease, and age-related macular degeneration: a review of recent research. *Nutrition Reviews*, 57(7), 201–214. [\[CrossRef\]](#)
30. Hirsch, K., Atzmon, A., Danilenko, M., Levy, J., Sharoni, Y. (2007). Lycopene and other carotenoids inhibit estrogenic activity of 17beta-estradiol and genistein in cancer cells. *Breast Cancer Research and Treatment*, 104(2), 221–230. [\[CrossRef\]](#)

31. Larsson, S.C., Bergkvist, L., Wolk, A. (2010). Dietary carotenoids and risk of hormone receptor-defined breast cancer in a prospective cohort of Swedish women. *European Journal of Cancer*, 46(6), 1079–1085. [\[CrossRef\]](#)
32. Zhang, X., Spiegelman, D., Baglietto, L., Bernstein, L., Boggs, D.A., van den Brandt, P.A., Buring, J.E., Gapstur, S.M., Giles, G.G., Giovannucci, E., Goodman, G., Hankinson, S.E., Helzlsouer, K.J., Horn-Ross, P.L., Inoue, M., Jung, S., Khudyakov, P., Larsson, S.C., Lof, M., McCullough, M.L., Miller, B.A., Neuhauser, M.L., Palmer, J.R., Park, Y., Robien, K., Rohan, T.E., Ross, J.A., Schouten, L.J., Shikany, J.M., Tsugane, S., Visvanathan, K., Weiderpass, E., Wolk, A., Willett, W.C., Zhang, S.M., Ziegler, R.G., Smith-Warner, S.A. (2012). Carotenoid intakes and risk of breast cancer defined by estrogen receptor and progesterone receptor status: a pooled analysis of 18 prospective cohort studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(3), 713–725. [\[CrossRef\]](#)
33. Tordjman, S., Chokron, S., Delorme, R., Charrier, A., Bellissant, E., Jaafari, N., Fougerou, C. (2017). Melatonin: Pharmacology, Functions and Therapeutic Benefits. *Current Neuropharmacology*, 15(3), 434-443.
34. Menéndez-Menéndez, J., Martínez-Campa, C. (2018). Melatonin: An anti-tumor agent in hormone-dependent cancers. *International Journal of Endocrinology*, 3271948. [\[CrossRef\]](#)
35. Nowfar, S., Teplitzky, S.R., Melancon, K., Kiefer, T.L., Cheng, Q., Dwived, P.D., Bischoff, E.D., Moro, K., Anderson, M.B., Dai, J., Lai, L., Yuan, L., Hill, S.M. (2002). Tumor prevention by 9-cis-retinoic acid in the N-nitroso-N-methylurea model of mammary carcinogenesis is potentiated by the pineal hormone melatonin. *Breast Cancer Research and Treatment*, 72(1), 33-43. [\[CrossRef\]](#)
36. Najafi, M., Salehi, E., Farhood, B., Nashtaei, M.S., Hashemi Goradel, N., Khanlarkhani, N., Namjoo, Z., Mortezaee, K. (2019). Adjuvant chemotherapy with melatonin for targeting human cancers: A review. *Journal of Cellular Physiology*, 234(3), 2356–2372. [\[CrossRef\]](#)