

25 Mart 2017 Cumartesi

09:00 - 09:15

OTURUM 1

09:15 - 09:45

09:45 - 10:15

10:15 - 10:45

10:45 - 11:00

OTURUM 2

11:00 - 11:30

11:30 - 12:00

12:00 - 12:30

12:30 - 13:00

13:00 - 13:45

OTURUM 3

13:45 - 14:15

14:15 - 14:45

14:45 - 15:15

15:15 - 15:45

OTURUM 4

15:45 - 16:15

16:15 - 16:45

16:45 - 17:15

17:15 - 17:30

17:30 - 17:45

AÇILIŞ KONUŞMALARI

Oturum Başkanı: *Selvi DURMUŞ ERİM / İlhan YAYLIM*

Akrep venom ve toksinlerinin antikanser potansiyelleri

Figen ÇALIŞKAN

Kanserde eksozomlar

Süreyya BOZKURT

ETS proteinleri ve beyin tümör başlatıcı hücreler

Işıl AKSAN KURNAZ

KAHVE MOLASI

Oturum Başkanı: *Işıl AKSAN KURNAZ / Özgür ŞAHİN*

Kanserde yeni ilaç keşfi: Özgün bir palladyum kompleksinin klinik öncesi değerlendirilmesi

Selvi DURMUŞ ERİM

Hüresel ve proteomik yaklaşımlarla metal bazlı bileşiklerin in vitro / in vivo moleküler etki mekanizmalarının incelenmesi

Ceyda AÇILAN AYHAN

Kastrasyon kısıtlı prostat kanserini (CRPC) tedavi etmek için dosetaksel konjuge, prostat spesifik membran antijen

Hedefli aptamer komplekslerinin geliştirilmesi

Mustafa GÜZEL

ÖĞLE YEMEĞİ

SATELLIT SEMPOZYUM: Marco L. Pirotta

Technology advances for molecular oncology research on solid tumor and liquid biopsy samples

Oturum Başkanı: *Ceyda AÇILAN AYHAN / Mustafa GÜZEL*

Hücre ölüm biyobelirteçlerinin onkoloji kliniğindeki önemi

Engin ULUKAYA

PC3 prostat kanseri hücrelerinde NSAIDler tarafından tetiklenen ölüm mekanizmasında p53'ün rolü

Elif Damla ARISAN

Otofaji ve kanser

Devrim GÖZÜAÇIK

KAHVE MOLASI

Oturum Başkanı: *Engin ULUKAYA / Devrim GÖZÜAÇIK*

Kanser ilaç direnci ve metastaz çalışmalarında transkriptomik ve fonksiyonel genomik entegrasyonu

Özgür ŞAHİN

Pan-EGFR inhibitörleri: HER2+ meme kanserinde yeni bir hedeflenmeşi terapi

Özgür KÜTÜK

Melatonin'in karanlık yüzü karsinogenezi aydınlatabilecek mi?

Gamze TANRIÖVER

Kısa Konuşma: Didem KARAKAŞ

Pankreatik kanser ve tümör mikroçevresinin EF2K inhibisyonu aracılığıyla hedeflenmesi

Kısa Konuşma: Nazlıhan AZTOPAL

Meme kanseri kök hücrelerinde Wnt ve HDAC inhibisyonu ile apoptozisin uyartılması

26 Mart 2017 Pazar

OTURUM 1

09:30 – 10:00

Oturum Başkanı : Elif İKİTİMUR ARMUTAK / Ahı BİŞGİN

Böbrek kanserinde pro-metastatik öge; Doku Transglutaminazı (TG2)

Dilek TELİ

10:00 – 10:30

Meme kanseri metastazında nöroimmün yollar

Nuray ERİN

10:30 – 11:00

Kanser kök hücreler ve kordomalarda kanser kök hücre varlığı

Ömer Faruk BAYRAK

11:00 – 11:30

KAHVE MOLASI

OTURUM 2

11:30 – 12:00

Oturum Başkanı : Ali Osmay GÜRE / Ömer Faruk BAYRAK

Kanser'le transkriptomik sınıflandırma temelinde kişiselleştirilmiş yaklaşım

Ali Osmay GÜRE

12:00 – 12:30

Karaciğer kanserinde sistem biyolojisi yaklaşımları ile biyoaktif molekül keşfi

Rengül Çetin ATALAY

12:30 – 13:00

Güncel klinik uygulamalarıyla kanserde yeni nesil dizileme (NGS):

Tanıdan tedaviye

Ahı BİŞGİN

13:00 – 14:00

ÖĞLE YEMEĞİ

OTURUM 3

14:00 – 14:30

Oturum Başkanı : Batu ERMAN / Serdar DURDAĞI

CRISPR/Cas9 metodu ile genom mühendisliği ve kanserde tümör baskılayıcı mekanizmaların keşfi

Batu ERMAN

14:30 – 15:00

Çok-boyutlu moleküler modelleme yaklaşımları ve deneysel teknikler ile anti-kanser öncü moleküllerin belirlenmesi

Serdar DURDAĞI

15:00 – 15:30

Teranostik nanoparçacıklar

Funda Yağcı ACAR

15:30 – 16:00

KAHVE MOLASI

OTURUM 4

16:00 – 16:30

Oturum Başkanı : Ümit Zeybek / Mahmut Selman YILDIRIM

Baş boyun kanserli hastalarda tükürükte epigenetik biyobelirteç arayışı

Semra DEMOKAN

16:30 – 17:00

Likit biyopsi zamanı geldi mi?

Murat BÜYÜKDOĞAN

17:00 – 17:30

Angiogenez miRNA ve radyoterapinin etkisi

Taner ÖZGÜRTAŞ

İSTİNYE ÜNİVERSİTESİ MOLEKÜLER KANSER ZİRVESİ

25-26 MART 2017

İstinye Üniversitesi Topkapı Kampüsü

Moleküler Kanser Zirvesi
ÖZET KİTAPÇIĞI

Kansere transkriptomik sınıflandırma temelinde kişiselleştirilmiş yaklaşım

Ali Osmay GÜRE

Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji Bölümü, Ankara

Yüksek çıktılı transkriptomik analizler ile kanserin klinikopatolojik sınıflandırmalarından bağımsız birçok alt grubu olduğunu tespit ediyoruz. Böyle alt grupların hastalığın prognozu, tedavi yanıtı ve sınıflanabilir biyolojik özelliklerini belirleyebildiğini üç ayrı tümör tipinde gösterdik. Böyle biyobelirteçler temelinde geliştirilecek testler kliniğe hızla adapte edilebilecek nitelikte olduklarından özellikle değerlidir. Ayrıca transkriptomik biyobelirteçlerin tespiti için kullanılabilecek yaklaşımların son derece çeşitli oluşuda, elde edilecek verilerin yeni ve dolayısıyla fikri korumaya uygun olmasını sağlamaktadır. Bu sunumda transkriptom analizleri temelinde hematolojik kanserlerin yeniden sınıflandırılması, kolon kanseri için prognoz öngörüsü, melanom için ilaç hassasiyet tespiti ve hemen tüm kanserler için EGFR inhibitörlerine hassasiyet belirteçlerinin tespitiyle ilgili yaptığımız son çalışmaları özetleyeceğim.

Güncel Klinik Uygulamalarıyla Kanserde Yeni Nesil Dizileme (NGS): Tanıdan Tedaviye

Atıl BİŞGİN

*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı &
Çukurova Üniversitesi AGENTEM (Adana Genetik Hastalıklar Tanı ve Tedavi Merkezi)
Adana, Türkiye*

Genetik tıp alanında günümüzün en son teknolojisi olan Yeni Nesil Dizileme (NGS), insan genom projesinin tamamlanmasıyla birlikte ortaya çıkan teknolojik atılımların en gözdesi olarak ön plana çıkmıştır. Bu yüzyılın genomik tıp yüzyılı olarak isimlendirilmesi, özellikle hastalıkların genetik temellerinin aydınlatılması ve bunun sonucunda da artan moleküler tanı sayesinde olmuştur.

NGS özellikle multigenik hastalıkların tanısı ve multigenik çalışmalarda vazgeçilmez bir enstrüman olarak kanser alanındaki tüm uygulamaların hedefi haline gelmiştir. Bugün için klinik uygulamalarda farklı kanser gruplarına yönelik farklı gen panelleri somatik mutasyonlar açısından tümör dokularından ya da herediter kanser olgularında germ-line mutasyonlar açısından periferik kandan çalışılabilmektedir. Bu hastaların sağkalımının ve hayat kalitesinin artırılabilmesi için tedaviye yanıtı etkileyen (direnç veya duyarlılık) ve prognostik etkisi olabilecek klinikle ilişkili genetik etyolojinin aydınlatılması büyük önem taşımaktadır. Bu sebeple birden fazla gen analizine imkan veren NGS sistemleri kullanılarak ayrıntılı moleküler genetik incelemeler yapılmaktadır.

Son bir kaç yılda geline nokta ise, kanser hastalarında girişimsel işleme gerek duyulmaksızın, periferik kandan kanser dokusuna ait serbest tümör DNA'larının elde edilmesi yoluyla yapılan "likit biyopsi"dir. Bu yöntemin patolojik doku örneklerinden yapılan çalışmalara göre en büyük üstünlüğü, tümör heterojenitesini en aza indirmesi ve tedavi başlangıcı sonrasında ortaya çıkan örnek eldesindeki zorluğu ortadan kaldırmasıdır.

Ancak bütün bu yöntemlerde esas olan, NGS ile elde edilen varyantların biyoinformatik analizlerinin hastaların klinik bulguları ile birlikte yapılabilmesidir. Bu sayede klinik raporlama yapılabilen ve bu raporlarda her bir kanser hastasında tanımlanacak genetik varyantlar sayesinde kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları planlanmaktadır. İyi klinik uygulamaları çerçevesinde, NGS aracılığıyla yapılan testlerin optimize edilmesi ve validasyonlarının yapılması gerekliliğinden dolayı bu testlerin yetkili ve yetkin merkezlerde yapılması önerilmektedir.

CRISPR/Cas9 Metodu ile Genom Mühendisliği ve Kanserde Tümör Baskılayıcı Mekanizmaların Keşfi

Batu ERMAN

batu@sabanciuniv.edu

*Sabancı Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Moleküler Biyoloji, Genetik ve
Biyomühendislik Program, Tuzla İstanbul 34956 Türkiye*

Geçtiğimiz on yılda gelişen genom mühendisliği teknikleri kompleks genomlarda noktasal değişiklikler yapmayı mümkün kılmaktadır. Bu teknolojinin tarihçesinde Zinc Finger Nuclease (ZFN), Transcriptional Activator Like Effector Nuclease (TALEN) ve CRISPR.Cas9 enzimleri rol oynar. ZFN proteinleri DNA'yı tanıyan üç ya da dört zinc finger motifine bağlanmış Fok I restriksiyon enzimlerinden oluşurlar. Tarihçede çığır açan ikinci yenilik, bitki patojeni olan *Xanthomonas* bakterilerinin genomlarında kodlanan Transcriptional Activator Like Effector (TALE) adındaki transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya bağlanmasını kontrol eden kodun bulunmasıdır. Bu proteinler, 34 amino asitten oluşan 17-20 adet tekrardan oluşan DNA bağlanma bölgelerine sahiptirler ve bu tekrar bölgeleri DNA'nın etrafını sarmalayan bir protein heliks yapısı oluşturmaktadır. TALE proteinlerine Fok I enziminden gelen nükleaz bölgesi eklenerek, hedeflenmiş DNA'yı kolay bir şekilde kesebilen TALEN proteinleri yaratılmıştır. CRISPR/Cas9 enzimleri ise DNA'yı tanıyan bir RNA molekülü (CRISPR gRNA) ve kesen bir nükleaz proteininden (Cas9) oluşmaktadır. Her üç teknoloji de genomda kesikler yaratmakta, bu kesikler hücrelerin DNA tamir mekanizması ile, ya "non homologous end joining" (NHEJ), ya da homolog rekombinasyon ile tamir edilmektedir. NHEJ sırasındaki tamir rastgele mutasyonlar (İnsersyon ya da delesyon -INDEL) yaratabilmekte, homolog rekombinasyon ise istenilen dizinin hedeflenmiş bölgeye sokulmasına neden olmaktadır. Bu teknikler ile kök hücrelerden pluripotent embriyonik yapılara, hücre hatlarından bitkilere kadar pek çok hücre tipinin ve organizmanın genetiğini hedeflemek mümkün olmaktadır. Konuşmada bu yeni teknolojinin laboratuvarımızdaki uygulamaları anlatılacaktır.

Anahtar Kelimeler: *Genom mühendisliği, CRISPR/Cas9, TALEN, p53, bağışıklık sistemi.*

Hücresel ve proteomik yaklaşımlarla metal bazlı bileşiklerin in vitro / in vivo moleküler etki mekanizmalarının incelenmesi

Ceyda AÇILAN

Kanserle savaşta kemoterapi birçok kanser türünün tedavisinde yaygın olarak kullanılan etkili bir tekniktir. Antikanser ilaçların mekanizmasında ve sitotoksitesinde, DNA'ya bağlanma özellikleri ve metal komplekslerinin DNA oligonükleotidleri ile yaptıkları çapraz bağlar önemli faktörlerdir. Yeni kemoterapik ilaç araştırmalarında, $[Pd(sac)(terpy)](sac) \cdot 4H(2)O$ (sac = saccharinate, and terpy = 2,2':6',2''-terpyridine) yakın geçmişte karakterize edilmiş olup ve grubumuz ve diğer araştırmacılar tarafından birçok kanser türüne karşı etkili bir sitotoksik ajan olduğu görülmüştür. Yaptığımız deneylerde hücre ölüm mekanizmasının büyük oranda apoptotik yollar (hücre küçülmesi, membran blebnelmesi, DNA kondensasyonu/fragmentasyonu, DNA merdiveni oluşumu ve kaspaz aktivitesinde artış) dolayısı ile olduğu gösterilmiştir. Pd (II) kompleksinin in vivo tümör baskılama etkinliği ve yan etkileri, Lewis akciğer karsinomu (LLC) hücreleri ile C57BL / 6J fare modeli kullanılarak incelenmiştir. Cisplatin ile karşılaştırıldığında, Pd(II) kompleksinin tümörü daha etkin bir şekilde küçülttüğü ve test edilen konsantrasyonlarda, iç organlar ve vücut ağırlığı üzerinde daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. In vitro ve hücre kültürü çalışmalarında Pd(II) uygulamasının DNA çift zincir kırıklarını indüklediği ve antioksidan bileşiklerin eklenmesiyle bu etkinin engellendiği gösterilmiştir. Ayrıca Pd(II) uygulamasının reaktif oksijen türlerini (ROT) arttırması, hücrelerde görülen DNA hasarının ROT üzerinden gerçekleştiriliyor olabileceğini işaret etmektedir. Bu ajana cevap nedeniyle meydana gelen moleküler değişiklikleri anlamak amacı ile meme kanseri (MDA-MB-231) hücrelerinde nano LC-MS/MS analizi yapılmıştır. Sonuçlarımıza göre, bu ilacın hücrelerde kullanımından sonra birçok yolağın etkilendiği; DNA tamir mekanizması, apoptoz, oksidatif stress, enerji metabolizması, protein katlanması, hücre iskeleti, mRNA olgunlaşması ve protein translasyonunda rol oynayan proteinlerini kapsayan 160'dan fazla anlatımı değişen proteinin olduğu gösterilmiştir. "Homolog Olmayan Uç Birleştirme Yolağı" (NHEJ) proteinlerinin Pd(II) uygulamasından sonra artmış olması bu yolağı tamir mekanizmasında öne çıkarmaktadır. NHEJ yolağının daha çok G1 fazından etkin olması dolayısı ile, kanser hücrelerini Pd(II)'ye karşı daha duyarlı hale getirmek amacıyla, değişik hücre safhalarında senkronize edilen hücreler Pd(II) ile etkileştirilmiştir. Senkronizasyon, morfolojik gözlemler ve akış sitometresi ile kontrol edilmiştir. Sonuçlarımız, ölüm fazında hiçbir belirgin varyasyon bulunmadığı halde G₁/S fazındaki HeLa hücrelerinin az da olsa duyarlı olduğunu göstermiştir.

Otofaji ve Kanser*

Doç. Dr. Devrim GÖZÜAÇIK

*SABANCI Üniversitesi, Moleküler Biyoloji, Genetik ve Biyomühendislik Programı ve EFSUN Nano Tanı
Mükemmeliyet Merkezi, İstanbul, TÜRKİYE*

e-posta: dgozuacik@sabanciuniv.edu

Otofaji, hücre içi makro molekülün ve organellerin bir kesecik içine alınarak lizozomlara yönlendirilmesi ve lizozomla birleşerek burada parçalanmasına yol açan bir mekanizmadır. Kısa ömürlü proteinlerin ubiquitin-proteazom sisteminde parçalanmasına karşın, uzun ömürlü proteinler ve hücre içi organeller otofaji sistemi tarafından parçalanırlar ve oluşan yapı taşları (örn. amino asitler) hücre kullanımı için yeniden kazandırılırlar. Son on yılda yapılan çalışmalar otofajinin, metabolizmanın düzenlenmesi, morfogenezis, hücre farklılaşması, yaşlanma, stres yanıtları, bağışıklık yanıtları ve hücre içi patojenlerin yıkımında etkin bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Ayrıca araştırmalar, otofaji bozukluklarının, kanser, bazı kalıtsal hastalıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi önemli sağlık sorunlarının nedenleri arasında yer aldığını göstermektedir.

Konuşmamda, laboratuvarımda keşfettiğimiz ve otofaji yollarını düzenlediğini bulduğumuz RNA ve proteinlerle ilgili en son veriler sunulacaktır. Bu moleküllerin sağlık ve hastalıktaki, özellikle kanserdeki görevleri ile tanı ve tedavi açısından önemleri tartışılacaktır.

*Bu çalışma TÜBİTAK 1001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı tarafından 112T272 ve 114Z982 numaralı projeler ile desteklenmiştir.

Referanslar:

- 1) Eberhart K, Oral O, **Gözüaçık D**. Induction of autophagic cell death by anticancer agents. pp 179-202. In the book: Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, and Infection. Hayat MA (Ed.). Elsevier Academic Press. 2013. ISBN: 9780124055308.
- 2) Tekirdag AK*, Korkmaz G*, Ozturk DG, Agami R, **Gözüaçık D**. miR-181a regulates starvation- and rapamycin-induced autophagy through targeting of ATG5. **Autophagy**, 2013 March; 9(3): 1-12.
- 3) Korkmaz G, le Sage C, Tekirdag AK, Agami R, **Gözüaçık D**. miR-376b controls starvation and mTOR inhibition-related autophagy by targeting ATG4C and BECN1. **Autophagy**, 2012 February; 8 (2): 165-176.
- 4) Oral O*, Oz-Arslan D*, Itah Z, Naghavi A, Deveci R, Karacali S, **Gözüaçık D**. Cleavage of Atg3 protein by caspase-8 regulates autophagy during receptor-activated cell death. **Apoptosis**, 2012 Aug; 17(8):810-20.
- 5) **Gözüaçık D**. Otofaji ve sinyal yolları. Pages 49-60. In the book: Hücre ölümü araştırma teknikleri. Koçturk S, Vatansever HS (Eds). **Eskisehir Osmangazi University Press**. 2012. ISBN No: 978-975-7936-95-4.
- 6) Öz-Arslan D, Korkmaz G, **Gözüaçık D**. Otofaji: Bir hücrel stres yanıtı ve ölüm mekanizması. **Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi**, 2011 Ekim; 2(4): 184-94.

Böbrek Kanserinde pro-metastatik öge; Doku Transglutaminazı (TG2)

Burge Ulukan¹, Ayca Zeynep İlter Akülke², Yeşim Bağatur³, Dilek Telci¹

1 Genetik ve Biyomühendislik Bölümü, Yeditepe Üniversitesi; 2 Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü, Acıbadem Üniversitesi, İş Geliştirme Departmanı, Dem İlaç, İstanbul.

Doku transglutaminaz (TG2) enzimi kalsiyum varlığında proteinler arası $\epsilon(\gamma\text{-glutamil})$ lysin çapraz bağının oluşmasını katalize edebildiği gibi, GTP varlığında GTPaz aktivitesi göstererek hücre büyümesini destekleyici sinyalizasyon proteini olarak çalışmaktadır. Son yıllarda yaptığımız çalışmalarla TG2'nin hücre dışında, "çapraz bağlama" enzim aktivitesinden bağımsız olarak, hücre adezyon molekülleri integrin $\beta 1$ (ITGB1) ve sindekan-4 (SDC4) ile kompleks oluşturarak MAPK hücre sağ kalım yolağını aktive ettiği gösterilmiş bulunmaktadır. Bu bağlamda çalışmalarımız, TG2'nin kanser gelişimi ve metastazında "özüml hücre adezyon molekülü" olarak görev yapan önemli bir öge olabileceğini ortaya sürmüştür. BHK gelişiminde ITGB1'in önemli olduğu literatürde yapılan öncül çalışmalar ile ispatlanmıştır. Buradan yola çıkılarak TG2'nin ITGB1 ve SDC4 ile beraber BHK gelişimindeki önemi 95 böbrek tümörü üzerinde yaptığımız çalışma ile gösterilmiş olup; aynı anda her üç genin ifade artışının BHK metastazı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Metastatik BHK hastaları üzerinde yaptığımız takibi çalışmada ise tümörlerde gözlemlenen TG2 ifade artışının 5 yıllık progresyonsuz ve kansere özgü sağkalım oranlarını düşürdüğü tespit edilmiştir. Grubumuzun yayınladığı bu bulguların ışığında, TG2'nin pro-metastatik aktivitesinin altında yatan moleküler mekanizmanın incelenmesi gereği doğmuştur. Çalışma kapsamında primer orijinli A-498 ve Caki-2 BHK hücreleri ile metastatik orijinli Caki-1 ve ACHN BHK hücrelerinde TG2 ifadesi siRNA teknolojisi kullanılarak baskılanmış ve bu hücrelerin adezyon, göç ve invazyon potansiyeli yabancı hücreler ile karşılaştırılmıştır. TG2'nin epitelyal mezenkimal geçişin (EMG) önemli öğeleri olan bu biyolojik işlemler için gerekli olduğu gözlemlenmiştir. Metastaz gelişiminin önemli bir moleküler bileşeni olan integrin deviniminde TG2'nin önemi ise Caki-1 hücrelerinde TG2 ifadesinin shRNA teknolojisi kullanılarak susturulması ve lentiviral transdüksiyon ile ifade arttırılışı yoluna gidilerek aydınlatılmıştır. TG2'nin EMG ve kanser kök hücre gelişimindeki rolünün tespit edilmesi için BHK model hücre hattı RenCa hücreleri TG2'nin transamidaz ve GTPaz mutantlarının ihtiva eden vektörlerle transdükte edilmiş ve bu hücre hatlarında EMG markör taraması ve sferoid deneyleri yapılmıştır. Çalışmamızın sonunda TG2'nin EMG sürecini aktive ederek hücre adezyon, göç, invazyon ve ITGB1 devimini indüklediği ve böylelikle BHK gelişimini ve metastazını desteklediği gösterilmiştir. Bu çalışma TÜBİTAK 109S43 ve EU Marie Curie ITN "TRANSPATH" 289964 projeleri ile desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler; Doku Transglutaminaz, Böbrek Hücreli Kanser, Epitelyal Mezenkimal geçiş, Integrin Devinimi

Pankreatik Kanser ve Tümör Mikroçevresinin EF2K İnhibisyonu Aracılığıyla Hedeflenmesi

Didem Karakaş¹, Bülent Özpolat²

¹Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye

²M.D. Anderson Cancer Center, Department of Experimental Therapeutics, Houston, USA

*Bu çalışma Tübitak 2214A Yurtdışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı tarafından desteklenmiştir.

Pankreatik kanser için günümüzde kullanılan tedavi yöntemleri sadece kanser hücrelerini hedeflemektedir, ancak son yıllardaki çalışmalar tümör mikroçevresinin de tümörjenez sürecinde aktif rol oynadığını göstermektedir. Ökaryotik elongasyon faktörü 2 kinaz (EF2K), kanser hücrelerinde artmış aktivite gösteren ve stres koşullarında kanser hücrelerinin hayatta kalmasında rol alan bir enzimdir. Pankreatik kanser hücrelerinde invazyonu tetiklediği bilinen EF2K enzimi ile tümör mikroçevresi arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmada, tümör mikroçevresinin önemli hücre gruplarından olan makrofajlar ile PANC1 pankreatik kanser hücreleri arasındaki etkileşimin EF2K ekspresyonuna etkileri incelendi. PANC1 hücreleriyle monositik THP-1 hücreleri ve bu hücrelerden farklılaştırılan makrofajlar indirekt olarak kültüre edildi ve PANC1 hücrelerinde EF2K ekspresyonu, hücre migrasyon ve invazyonundaki değişimler incelendi. PANC1 hücreleriyle monosit ve makrofajların kokültürü sonrası, tümör mikroçevresinin önemli kemokinlerinden olan monosit kemoatraktan-1 proteini (MCP-1) düzeylerindeki değişim ELISA testi ile ölçüldü. Ardından, MCP-1'in PANC1 hücrelerinde EF2K ekspresyonu üzerine ve monosit-makrofaj dönüşümü üzerine etkileri incelendi. MCP-1 ile EF2K arasındaki etkileşimi incelemek amacıyla, EF2K overeksprese PANC1 hücreleri kullanılarak bu hücrelerdeki MCP-1 düzeyi ölçüldü. Ardından, EF2K siRNA'sı kullanılarak PANC1 hücreleri ve MCP-1 protein ekspresyonu üzerine etkileri incelendi. Ayrıca, *in vivo* EF2K inhibisyonu gerçekleştirildi ve MCP-1 düzeyi incelendi. Tümöre infiltre olan protümörjenik makrofajlar immünohistokimyasal boyama ile gösterildi.

Makrofajlar ile PANC1 hücreleri arasındaki etkileşimin EF2K ve MCP-1 ekspresyonunda, hücre migrasyon ve invazyonunda artışa neden olduğu bulundu. Ayrıca EF2K ile MCP-1 arasında iki yönlü bir etkileşim olduğu ve MCP-1'in monositlerin protümörjenik makrofajlara farklılaşmasına yol açtığı bulundu. EF2K'nin *in vitro* susturulması MCP-1 protein düzeyinde, hücre invazyon ve migrasyonunda azalmaya yol açtı. Ayrıca, *in vivo* EF2K inhibisyonunun tümör hacmi ve proliferasyonunda ve MCP-1 protein ekspresyonunda azalmaya neden olduğu gösterildi. EF2K inhibisyonu tümöre infiltre olan protümörjenik makrofaj sayısında azalmaya yol açtı.

Sonuç olarak, EF2K inhibisyonu ile kanser hücreleri ve makrofajların birlikte hedeflenmesinin pankreatik kanser tedavisi için umut verici bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: pankreatik kanser, tümör mikroçevresi, makrofaj, EF2K, MCP-1

PC3 prostat kanseri hücrelerinde NSAIDler tarafından tetiklenen ölüm mekanizmasında p53'ün rolü

Elif Damla Arısan, Okan Akar, Özge Berrak, Pinar Obakan-Yerlikaya, Ajda Çoker-Gürkan ve
Narçin Palavan-Ünsal

Elif Damla Arısan

*İstanbul Kültür Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
İstanbul*

Steoid olmayan enflamatuar yanıtı engelleyen ilaçlar (NSAID) günümüzde en çok kullanılan ilaç tipleri olarak tanımlanmaktadır. NSAID grubunda olan ibuprofen, diklofenak gibi ilaçların kanser vakalarında kemoönleyici potansiyelleri tartışılmaktadır. Özellikle klinik verilere dayalı meta-analizler NSAIDlerin moleküler hedeflerinin anlaşılmasının kanser terapisinde önemli olacağına vurgu yapmaktadır. Bu moleküler hedeflerden Tümör baskılayıcı p53 “genomun bekçisi” kanser gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Kanser hücrelerinin birçoğunda p53 ifadesi ve sinyal yollarındaki sorunlar hem agresif kanser türlerini tetiklemekte hem de tedavi süreci boyunca belirleyici bir moleküler hedef halindedir. NSAIDler, ibuprofen ve diklofenak p53 ifadesinden yoksun PC3 prostat kanseri hücrelerinde terapotik potansiyele sahiptir. Ancak bu terapotik potansiyelin temel moleküler hedefleri tam olarak bilinmemektedir. Bu nedenle, çalışmamız kapsamında, p53 ile ilişkili olarak NSAIDler tarafından tetiklenen hücre ölümünün ve sağ kalım üzerindeki inhibitif etkinin nedenlerini araştırılması amaçlanmıştır. P53 stabil ifadesine sahip PC3 hücreleri ve PC3 doğal tip hücrelere 1 mM ibuprofen uygulanması ile hücre canlılığının sırası ile %40 ve %25 oranında azaldığını tespit ettik. p53 ifadesi dolayısı ile NSAIDler için terapotik süreçte kritik bir rol oynamaktadır. Benzer şekilde bir diğer NSAID olan diklofenak (250 µM) uygulamasına 24 saat boyunca maruz bırakılan PC3 doğal tip ve p53+ hücrelerde ise %50-60 oranında hücre canlılığının azaldığı gösterilmiştir. NSAIDler temelde reaktif oksijen türevlerini tetikleyerek hücrelerde apoptotik hücre ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca MAPK sinyal eksenindeki proteinlerin ifade düzeylerindeki değişim, kaspaz kesilimi ve mitokondri membran potansiyelinin bozulması gibi olaylara sırası ile neden olmaktadır. p53 stabil ifadesine sahip olan PC3 hücrelerinde ilaçlarla tetiklenen Bax ve Bak ifade artışına NSAIDlerin daha fazla neden olmasından ötürü p53 ifadesinin PC3 hücrelerinde terapinin etkinliği için kritik olduğu sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde antiapoptik Bcl-2 üyelerinin de ifadesi p53 varlığında artış göstermiştir.

NSAIDlerin kanser hücrelerinde hücre sağkalım ve ölüm kararında p53 gibi moleküler hedeflerinin tanımlanması, kemoönleyici potansiyellerinin tanımlanabilmesi açısından önem arz etmektedir.

Hücre Ölüm Biobelirteçlerinin Onkoloji Kliniğindeki Önemi

Prof. Dr. Engin Ulukaya

İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya A.D. 34010 İstanbul

Genel olarak hücre ölümü hem tıp hem de biyolojik bilimlerde uzun yıllardır ihmal edilen bir konu olmasına rağmen özellikle apoptozisin önemi giderek artmaktadır. Çeşitli formlardaki (nekrozis, apoptozis, otofaji?) hücre ölümünün çeşitli hastalıklarla (özellikle kanser ile) veya çok çeşitli biyolojik süreçlerle yakın ilişkisi belirlenmiştir. Örneğin bir kanser ilacının hangi tür ölümüne yol açtığını bilmek tedavinin etkinliğini izlemek isteyen için önemlidir (örn. apoptozisin indüklendiği bir ortamda nekrozis belirteci ile izlem yapılması uygun olmaz). Bu nedenle, hücre ölümü ve ilgili biobelirteçleri özellikle temel veya klinik kanser araştırmalarında yeni tedavi takip olanakları sağlayabilir. Bilindiği gibi, kemoterapötik ajanların kanser hücrelerini klasik olarak apoptozisle öldürdüğü (nekrozis ve/veya otofaji de olası olmasına rağmen) bilinmektedir. Son yıllarda, apoptozise özgü bir serum belirtecinin kanser hastalarının prognozunun belirlenmesinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir. Bu belirteç, **M30 antijen** olarak da isimlendirilen (ya da kısaca M30) **kaspazla kırılmış sitokeratin 18**'dir. M30 antijen apoptotik hücrelerden salınarak serumla karışabildiğinden bir tür apoptozis belirtecidir. Benzeri şekilde M65 ise nekrozis belirtecidir. Her ikisi de ELISA ile kolayca ölçülebilir. M30 antijenin kanser hastalarında farmakodinamik¹ bir belirteç olarak önem kazanacağı umulmaktadır. Bazal M30 antijen değerlerinin akciğer kanseri hastalarında sağlığı tahmin etmede kullanılabilecek bir belirteç olabileceği² ve metastatik meme kanseri hastalarında ise serum düzeylerinin artabileceği³ rapor edilmiştir. Fakat, buna rağmen gerek serum gerekse de dokulardaki apoptozis düzeyi hasta prognozunu doğru olarak tahmin etmede çelişkili sonuçlar vermektedir. Sonuç olarak, bu konuşmada hücre ölüm serum biobelirteçlerinden özellikle temel ve klinik kanser araştırmalarında ne şekilde yararlanabileceğimizden literatür bilgileri ve grubumuzun çalışmaları ışığında bahsedilecektir.

1. Linder S, Olofsson MH, Herrmann R, **Ulukaya E**. Utilization of cytokeratin-based biomarkers for pharmacodynamic studies. Expert Rev Mol Diagn. 10: 353-359, 2010; **2.** **Ulukaya E**, Yilmaztepe A, Akgöz S, Linder S, Karadağ M. The levels of caspase-cleaved cytokeratin 18 are elevated in serum from patients with lung cancer and helpful to predict the survival. Lung Cancer. 56:399-404, 2007.; **3.** **Ulukaya E**, Karaagac E, Ari F, Oral AY, Adim SB, Tokullugil AH, Evrensel T. Chemotherapy Increases Caspase-Cleaved Cytokeratin 18 in the Serum of Breast Cancer Patients. Radiology and Oncology 45: 116-122, 2011. **4.** Cevatemre B, **Ulukaya E**, Sarimahmut M, Oral YA, Frame FM. The M30 Assay does not detect apoptosis in epithelial-derived cancer cells expressing low levels of cytokeratin 18. Tumour Biol. 36:6857-65, 2015

Akrep Venom ve Toksinlerinin Antikanser Potansiyelleri

Doç. Dr. Figen ÇALIŞKAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Akrep, yılan, örümcek ve arı gibi hayvanlardan elde edilen peptidler uzun yıllar geleneksel tıp alanında kullanılmış, günümüzde ise biyofarmasötik araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Son 30 yıldır hayvansal peptidlerden Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) onaylı olarak hipertansiyon (*Hayvan: yılan, peptid adı: Captopril(Teprotide), FDA onayı: 1981*), kronik ağrı (*hayvan: konik salyangoz, peptid adı: ω-Conotoxin MVIIA (Ziconotide, Prialt®, FDA onayı: 2004)*), diabet (*hayvan: kertenkele, peptid adı: Exenatide (Byetta®, FDA onayı: 2005)*) gibi hastalıkların klinik tedavisinde kullanılan peptidler elde edilmiştir.

Hayvansal peptidlerin antikanser potansiyele sahip olmaları ise diğer yeni bulgulardandır. Akrep venomlarından saflaştırılan Chlorotoxin, BmK AGAP, BmKCT, Iberiotoxin, Magatoksin, Charybdotoxin, Bengalin, Neoplatin 1 ve 2 peptidleri kanser tedavisinde geliştirilme aşamasında olan güncel peptidlerdir. Chlorotoxin Glioma tedavisinde Faz II çalışmaları devam eden ve geliştirilme aşamasında olan 36 aminoasit uzunluğunda bir peptiddir. Akrep venom peptidlerinin iyon kanallarını hedefleyerek hücre çoğalmasını ve metastazı durdurduğu bilinmektedir. Ayrıca kazpaz aktivasyonu arttırması, hücre döngüsünü durdurarak hücreyi apoptoza indüklemesi nedeniyle kanser hücrelerine karşı büyük bir potansiyeli olduğu bilinmektedir. Chlorotoxin'in 1998 yılında beyin tümörlerine bağlanma özelliklerinin keşfinden sonra başlayan süreç görüntüleme (tümör boyama), nanoteknoloji ve radyoterapi olmak üzere üç ayrı kategoride devam etmektedir. Günümüzde rekombinant olarak üretilen Chlorotoxin TM-601'in yanı sıra radyo-konjugatları (¹³¹I-TM601)'ninde antianjiyogenik ve antineoplastik etkiye sahip olduğu konjuge olarak çalışan molekül bütünlüğünde chlorotoxin' in etkinliğinde bir kayıp olmadan kanserli hücrelerin görüntülenmesinde rol alan bir molekül olduğu ortaya konmuştur.

Ülkemiz akreplerinden *Androctonus crassicauda*, *Mesobuthus gibbosus*, *Buthacus macrocentrus* peptidleri ile yaptığımız biyokimyasal ve genomik çalışmalar ile proteolitik, sitotoksik, antibakteriyel, sodyum ve potasyum kanalına etkin peptidler grubumuz tarafından saflaştırılmıştır. Transkriptomik çalışmalar ile bileşenlerinde iyon kanallarına tanımlı peptidlerin yanı sıra; sitolitik, antibakteriyel ve Chlorotoxin-benzeri peptidler belirlenmiştir.

Theranostik Nanoparçacıklar

Doç. Havva Funda Yağcı Acar

Özellikle son 20-30 yıldır, nanoparçacıkların özellikleri ve sentezi konusunda çok şey öğrenildi ve çok yol kat edildi. Manyetik nanoparçacıklar (MNP) ve luminesan kuantum noktacılar (LKN) özellikle medikal görüntüleme sahasında çok araştırılan ve yüksek potansiyele sahip nanoparçacıklardır. MNP tarihsel olarak daha eski olan ve MRI da kontrast ajanı olarak kullanılan nanoparçacıklardır. LKN daha yeni ve medikal görüntüleme de henüz insan uygulaması olmasa da günümüzde en umut vadeden yeni medikal görüntüleme modalitesi olan optik görüntülemeye kontrast ajanı olarak kullanılabilecek nanoparçacıklardır. Medikal görüntüleme/teşhis amaçlı kullanılabilecek bu nanoparçacıkların, terapötik etkisinin olması da çok arzulanan bir durumdur. Bu amaçla nanoparçacıklara ilaç yüklemek ve hatta nanoparçacıkları hastalıklı dokuya yönlendirilmek de mümkün olabilir. Bu sayede hem nanoparçacıkların nerede olduğunu görmek, hem tedavinin seyrini takip etmek mümkün olabilir. Bu tür çok işlevli nanoparçacıklara teranostik denilmektedir. Bu konuşmamda süperparamanyetik demir oksit ve yakın kızılötesinde ışık yayan kuantum noktacıların teranostik yapıda geliştirilmesi ve uygulamalarından bahsedeceğim.

Melatonin'in Karanlık Yüzü Karsinogenezi Aydınlatabilecek mi?

Doç. Dr. Gamze TANRIÖVER

gamzetanrioever@akdeniz.edu.tr

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı 07070 Kampüs, Antalya

Melatonin (N-acetyl-methoxytryptamine) pineal bezden salınan, santral sirkadiyen ritmin ve beraberinde de birçok vücut fonksiyonunun düzenlenmesinde rol alan bir indolamindir. Bu hormon, üretildikten sonra hücre içinde depolanmadan, düşük molekül ağırlığına sahip olması ve lipofilik-hidrofilik özelliği nedeniyle pinealositlerden basit difüzyon ile hızla atılmaktadır. Kan-beyin bariyeri engeli olmadığı için de direk kan dolaşımına ulaşmaktadır. Melatoninin; nöroendokrin, sirkadiyen ritm üzerine etkileri dışında, beyin hemostazı, retinal fizyoloji, immün modülasyon, enzim regülasyonu, anti-oksidasyon, çeşitli kinazların ve transkripsiyon faktörlerinin regülasyonu ile tümör inhibisyonu üzerine etkili olabildiği bildirilmiştir.

Melatonin tümör aktivitesine karşı anti-inflamatuvar ve anti-anjiyogenik etkiyle, onkogen ekspresyonlarının düzenlenmesinde hücre proliferasyonunu sınırlayıcı onkostatik bir aktiviteye sahiptir. Ayrıca, epitelyal-mezenkimal dönüşüm faktörlerini etkileyerek metastazı inhibe edici yanıtları tetikleyebildiği, hücrelerin invazyon kapasitelerini değiştirebildiği *in vitro* çalışmalarla vurgulanmaktadır. Bilinen bu etkilerin *in vitro* çalışmalarla vurgulanmasını takiben, son yıllarda melatoninin, sirkadiyen ritimde meydana gelen bozulmalarla *in vivo* kanser oluşumu, gelişimi ve seyrinde önemli etkiler yaratabileceği üzerinde durulmaktadır.

Çalışmalarımızda melatoninin anti-karsinogenik etkilerini *in vivo* meme kanseri modelinde hem tek başına hem de doksorubisin ile kombine tedavi sonrasında, primer tümör gelişimi ve metastaz yanıtları açısından değerlendirilmesi hedeflenmektedir. Bu amaç doğrultusunda, meme kanseri modelinde farelerin tedavi süreçleri sırasında ve sakrifikasyon sonrası tümör boyutlarını değerlendirip, metastaz analizlerini yaparak gruplar arasındaki farkları yorumladık. Melatoninin metastatik meme kanseri tedavisinde bireysel ve doksorubisin ile birlikte kullanımında, metastatik yanıtları inceleyen bir çalışma literatürde yer almadığından; özellikle bu noktaların vurgulanması doksorubisin ile tedavi seçenekleri arasında düzenli melatonin kullanımının etkinliğine dikkati çekecektir. Bu çalışmanın ileriye yönelik yeni projelere ışık tutacağı kanaatindeyiz.

"Bu çalışma TÜBİTAK 3001 Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı tarafından 315S181 numaralı proje ile desteklenmektedir."

Anahtar Kelimeler: Melatonin, meme kanseri, karsinogenez.

ETS proteinleri ve beyin tümör başlatıcı hücreler

Işıl AKSAN KURNAZ

*Moleküler Nörobiyoloji Laboratuvarı (AxanLab), Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Gebze Teknik Üniversitesi, Gebze Kocaeli*

Viral E26 onkogenlerinin öncüsü olduğu ETS (E_{twenty six}) proteinleri süperailisinin bir alt ailesi olan TCF (Ternary Complex Factor) üyelerinden Elk-1 genellikle mitojenik uyarılara karşı aktive olan ve ilk-öncü genleri regüle ettiği bilinen bir transkripsiyon faktörüdür. Yakın zamanlarda hücrelerde sadece proliferasyonla değil aynı zamanda sağkalımla da ilişkili olduğu bulunmuş, ve beyin tümör hücreleri özelinde de MAPK uyarısı ile proliferatif, PI3K/Akt yolağı üzerinden de anti-apoptotik rolü gösterilmiştir. Laboratuvarımızda beyin tümör model hücrelerinde mikrodizin ve RNAi gibi çeşitli yöntemlerle yaptığımız çalışmalarda Elk-1 proteininin beyin tümör başlatıcı hücre proliferasyon ve sağkalımında rolü olduğunu göstermiş, ve bu işleve yönelik hedeflerini tanımlamış bulunuyoruz. Konuşmada, bu rolü ve ilgili hedef genleri tartışacağız.

Technology advances for molecular oncology research on solid tumors and liquid biopsy samples

Marco L. Pirotta

The number of biomarkers (hotspots, SNVs, indels, CNVs, and gene fusions from DNA and RNA) for the molecular characterization of cancer research samples is continuously increasing. Usually only limited amounts of DNA or RNA is available from FFPE tissue samples, fine needle aspirates or from circulating free tumor DNA (ctDNA, cfDNA) requiring efficient, sensitive and reproducible methodologies. We present state-of-the-art Ion Torrent Next-Generation Sequencing workflows for clinical and translational cancer research to simultaneously investigate a large number of biomarkers across multiple cancer types. Detection sensitivities for SNV's down to 0.1% allele frequencies will be presented for the Applied Biosystems digital PCR technology as well as for selected Ion Torrent applications.

Likit Biyopsisinin zamanı geldi mi?

Yrd. Doç. Dr. Murat Büyükdogan

İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Kanser genlerimizin, hücrelerin çalışma şeklini, özellikle büyümeleri ve bölünmelerini kontrol eden bazı değişikliklerden kaynaklanan genetik bir hastalıktır. Bu değişiklikler, genlerimizi oluşturan DNA'daki mutasyonlar sebebiyle oluşmaktadır. Tamir ve tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlar ortaya çıktığında, hücreler kontrol dışı kalabilir ve kanserleşebilirler. Doku biyopsisi, kanserler için standart tanı yöntemidir ve aynı zamanda, kanserlerin hedefe yönelik tedavilerine yardımcı olabilecek, genotiplendirme için bir gereklidir. Bununla birlikte, doku biyopsisi tabanlı kanser tanı yöntemleri, tümör heterojenitesi ve gelişimi nedeniyle kanser gelişimini, prognozunu ve genotiplendirmesini değerlendirmede sınırlı olabilmektedir. Dolaşan tümör DNA'sı (ctDNA), tümör hücreleri tarafından kana salınan tek veya çift sarmallı DNA'dır ve orijinal tümörün mutasyonlarını içerir. Son yıllarda, ctDNA analizine dayanan sıvı biyopsi, kanserin moleküler teşhisi ve izlenmesi üzerine yeni bir umut olmuştur. Son yıllarda yapılan çalışmalar, plazmadan hücre dışı tümör DNA'sının (ctDNA), akciğer kanserinde duyarlı ve dirençli mutasyonların saptanması için genomik bir materyal kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermiştir. CtEGFR Mutasyon Saptama Kiti plazmadan ayrıştırılan ctDNA'da EGFR aktive edici mutasyonların varlığını doğru bir şekilde saptamak için invaziv olmayan, ultra duyarlı bir testtir. Test, EGFR'deki en yaygın sensitizasyon (ekson 19 delesyonları ve L858R) ve direnç (T790M) mutasyonlarını tanımlar. Ayrıca, niceliksel kalibratörler bilinmeyen numunelerdeki her varyantın mutlak kopya sayısının nicelleştirilmesini sağlar ve testi, tedavi boyunca yanıtın izlenmesi için ideal hale getirir. Yapılan çalışmalar, genetik mutasyonların ctDNA kullanılarak taranmasının oldukça hassas ve spesifik olduğunu ortaya koydu; ctDNA analizinin, erken teşhis koymayı kolaylaştıran mevcut tüm teşhis sistemlerini önemli ölçüde iyileştirebileceğini düşündürüyordu. Dahası, ctDNA analizi, tümör progresyonunu, prognozunu ve hedefli tedavide yardımcı olan doğru bir şekilde belirlenebilir. Bu nedenle, ctDNA'nın bir sıvı biyopsi olarak kullanılması, tümör yönetimi için bir devrim niteliğindedir. Merkezimizde CE ve IVD belgeli EGFR mutasyon tarama kiti ile Likit Biopsiden EGFR mutasyon analizi yapılmaktadır.

Kastrasyon Kısıtlı Prostat Kanseri (CRPC) Tedavi Etmek İçin Dosetaksel Konjuge, Prostat Spesifik Membran Antijen Hedefli Aptamer Komplekslerinin Geliştirilmesi,

Mustafa GÜZEL

OZET: Prostat kanseri (PCa), dünya çapında erkeklerde yıllık 1,1 milyon erkekde teşhis edilen en yaygın ikinci kanser türüdür. Ayrıca, dünya çapında yaklaşık 307.000 ölümle premature ölümlerin ana nedenidir. Türkiye’de prostat kanserinden kaynaklı ölüm oranları dünyadaki en yüksek oranlar arasındadır. Prostat kanserinden kaynaklanan 100.000’de 25,4 ölüm oranıyla Türkiye 172 ülke arasında 38. sırada yer almaktadır ki bu oran ABD’nin yaklaşık 2 katıdır. Türkiye’de prostat kanserine bağlı bu yüksek ölüm oranının sebebi kısmen hastalığın tedavisinin daha zor olduğu geç aşamalarda teşhis edilmesidir. Bununla birlikte, ilacın suda çözünürlüğü zayıf olup klinik uygulama için kullanılan formülasyonlar (örneğin cremophor, Tween-80) nöropati de dahil olmak üzere ciddi yan etkilere neden olur. Dahası, DTX ile tedavi edilen hemen hemen tüm CRPC hastaları hastalığın ilerlemesi ile birkaç yıl içinde ölürlür. DTX’in sudaki zayıf çözünürlüğünü ve nöropati teşvikleyici ajanlar ile formülasyon ihtiyacını ortadan kaldıran yeni ve hedefe yönelik bir dağıtım sistemi ile prostat kanser hücrelerine özel olarak daha yüksek seviyelerde ilaç gönderilmesi CRPC hastalarının tedavi sonuçlarını iyileştirebilir. Böyle bir ilaç dağıtım sistemi prostat kanseri mortalitesinden orantısız olarak daha yüksek derecede etkilenen ve yeni teknolojileri geliştirmek ve kullanmak için kısıtlı kaynaklara sahip olan ülkelerde ve Türkiye’de kolaylıkla konuşlandırılabilir.

ABD’de Dr. Gmeiner ve Dr. Salsbury tarafından ve Türkiye’de Dr. Güzel liderliğindeki araştırma ekibi DTX’in çözünürlük sorunlarını çözecek ve DTX’i özellikle prostat kanseri hücrelerine hedefleyebilmek amacıyla DNA aptamerlerini kullanarak DTX kemoterapisini iyileştirmek için yeni ve hedefe yönelik bir yaklaşım geliştirmektedir. Bu ekip yakın zamanda, iyi huylu dokulardaki sınırlı ekspresyonu ve ilerlemiş prostat kanserindeki oldukça yaygın ekspresyonu sebebiyle prostat kanser hücrelerine hedefli DTX dağıtımı için ideal bir protein olan prostata spesifik membran antijeni (PSMA) için ilk DNA aptameri olan SZT101’i geliştirdi. Dr. Gmeiner, yüksek kapasiteli ilaç dağıtımı ile prostat kanserini tedavi etmek için PSMA’yı hedefleyen aptamerlerin kullanımını açıklayan bir ABD patentinin [14/498.444] mucididir ve Wake Innovations bu teknolojinin araştırma ekibi tarafından kullanılmasına olanak sağlayacaktır. Uzun vadeli hedefimiz, bu teknolojiyi CRPC’yi Türkiye’de ve diğer gelişmekte olan ülkelerde olduğu gibi ABD’de ve gelişmiş dünyada etkili bir şekilde tedavi etmek için kullanmaktır. Bu başvurunun hedefleri, ABD ekibi tarafından optimum DTX dağıtımı için PSMA’yı hedefleyen aptamer yapımızı optimize etmek ve Türk ekibi tarafından docetaxel salım kimyasını optimize etmektir. Daha sonra ABD ve Türkiye’deki ekipler optimize edilmiş yapıyı PSMA+ prostat kanser hücrelerine karşı seçici sitotoksikite için ve *in vivo* CRPC modellerinde güvenlik ve etkinlik için test edecektir. ***Bizim PSMA’yı hedefleyen aptamerimizin DTX konjugatlarının, mevcut kullanımdaki DTX formülasyonlarına kıyasla üstün etkinlik göstereceğini ve CRPC tedavisi için klinik gelişime hız kazandıracağını düşünüyoruz. Aynı zamanda aptamer kompleksimizin fiziksel ve kimyasal kararlılığı bu teknolojinin Türkiye’de kolay ve hızlı bir şekilde kullanımına izin verecektir***

Meme Kanseri Kök Hücrelerinde Wnt ve HDAC İnhibisyonu ile Apoptozisin Uyarılması

Nazlıhan Aztopal¹, Merve Erkisa¹, Ferda Arı², Egemen Dere², Engin Ulukaya³

¹ *Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, Bursa*

² *Uludağ Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bursa*

³ *İstinye Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul*

E-mail: nazlihanaztopal@gmail.com

Epigenetik değişiklikler, kanser kök hücre (KKH) özelliklerinin düzenlenmesinde önemli role sahip olup histon asetilasyon programının değişimi farklılaşma ve apoptozis süreci ile yakından ilişkilidir. KKH'leri, kemoterapi ile indüklenen apoptozise dirençten sorumludur ve hücre yaşamı, kendini yenileme, proliferasyon süreçlerinde rol oynayan Wnt/ β -katenin sinyal yolağı bu hücrelerde yeniden aktive olmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, Niklozamid (Wnt/ β -katenin sinyal yolağı inhibitörü) ile Valproik asit (VPA, histon deasetilaz inhibitörü) kombinasyonunun meme kanseri KKH'leri üzerine olası sitotoksik/apoptotik etkileri araştırılmıştır.

Niklozamid (1 μ M, 24 saat ön-tedavi) ve VPA (0.63-5 mM) kombinasyonunun hücre canlılığı üzerine etkisi ATP yöntemiyle belirlendi. Asetillenmiş histon H3 düzeyleri ELISA yöntemiyle değerlendirildi. Kombinasyon tedavisiyle değişen Wnt/ β -katenin sinyal yolağı, KKH karakteri, EMT ve histon modifikasyonları ile ilişkili protein düzeyleri western blot ile gösterildi. Hücre ölüm modu; Hoechst 33342/PI ikili boyama, M30 ELISA, akım sitometri (mitokondri membran potansiyeli ve Bcl-2 aktivasyonu), western blot (apoptozis, otofaji ve ER stresi ile ilişkili protein düzeyleri) ve Real-time PCR (apoptozis ve otofaji ile ilişkili gen düzeyleri) yöntemleriyle değerlendirildi.

Meme kanseri KKH'lerinde, kombinasyon tedavisinin artmış Histon H3 asetilasyonu ve daha güçlü Wnt/ β -katenin yolak inhibisyonuna yol açarak hücre canlılığını belirgin bir şekilde azalttığı belirlendi. Bununla birlikte, KKH karakterinin baskılandığı ve epitelyal belirteçlerin tekrar eksprese edildiği bulundu. MCF-7 hücrelerine kıyasla daha düşük düzeyde gözlenen H3K9 ve H3K27ac'ları ile H3K4me3'unun zamana bağlı olarak arttığı görüldü. Apoptozis; piknotik nukleusların varlığı, M30 düzeylerinde artış, hücre ölüm reseptörleriyle ilişkili gen ve protein düzeylerindeki değişiklikler ile gösterildi. Ayrıca, bu süreçte otofajik akışın bozulduğu ve ER stresinin indüklendiği gözlemlendi.

Sonuç olarak, meme kanseri KKH'lerinde, Wnt sinyalizasyonunun inhibe edilmesiyle VPA'ya duyarlılığın, dolayısıyla histon asetilasyonunun arttığı ve KKH karakteri baskılanarak apoptozisin güçlü bir şekilde uyarıldığı gösterildi. Bu kombinasyon tedavisinin, KKH'leri hedefleyen ve bu hücreleri KKH özelliği taşımayan hücrelere dönüştüren bir yaklaşım olarak meme kanseri tedavisinde yeni ufukların açılması açısından umut verici olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Apoptozis, Histon Modifikasyonları, Kanser Kök Hücre, Wnt Sinyalizasyonu

Meme Kanseri Metastazında Nöroimmün Yollar

Nuray Erin, MD, PhD

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji ABD. Antalya
nerin@akdeniz.edu.tr

Stresin, kanser oluşumu üzerindeki etkisini irdeleyen pek çok bilimsel çalışma bulunmaktadır. Sonuçların önemli bir kısmı psikolojik ve aşırı fiziksel stresin kanserin ilerlemesini etkilediği yönündedir. Kanser hastalarının önemli bir kısmında depresyon gözlenmektedir. Majör depresyonda, NK (Natural Killer) hücrelerinin aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca depresyonda hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksının aktivitesi artmakta ve bu değişiklikler kanser progresyonunu hızlandırmaktadır. Major depresyonda ve strese gözlenen nöroimmün değişikliklerin kanser gelişimini ve yayılımını nasıl etkilediği henüz tam olarak bilinmemektedir. Yaptığımız çalışmalar kapsaisine duyarlı duyuşal sinirlerin kansere verilen immünolojik yanıtta önemli olduğunu göstermektedir.

Afferent sinir sonlanmalarından salınan kortikotropin-salıveren hormon, P maddesi ve kalsitonin-gen ilişkili peptit özellikle makrofajlarda, epitel ve endotel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırarak gerekli alanlara lökosit göçüne neden olmaktadır. Bu durum özellikle akut inflamasyona neden olarak uyarıya neden olan patojenin ortadan kaldırılmasına aracılık etmektedir. Patojen kanser hücresi ise bu durum kanser hücresinin ortadan kaldırılması lehine gelişmektedir. Eğer ilk yanıt yeterli olmazsa makrofajların yerini nötrofiller almakta ve T hücreleri aktive edilerek sistemik yanıt oluşturulmaktadır. Yakın dönemde yapılan çalışmalar bu aşamada hücrel ve hormonal mediatörlerin yanı sıra vagus sinirinin de devreye girdiğini göstermektedir. Vagus siniri inflamatuvar mediatörlere özellikle IL-1'e çok duyarlıdır ve santral sinir sisteminin farklı bölgelerinde lokal aktivasyona neden olmaktadır. Vagusun bu rolü özellikle inflamatuvar sitokinlerin konsantrasyonunun düşük olduğu durumlarda önemli olmaktadır. Düşük düzeyde lokal sitokin salınımı, kanser gelişiminin erken döneminde gözlenmektedir. Vagal duyuşal lifler, bu dönemde kanser gelişimi ile ilgili ilk bilgileri santral sinir sistemine iletmektedir. Vagus sinirinin % 80'ini afferent lifler oluştururken % 20'sini efferent lifler oluşturmaktadır. Vagus sinir stimülasyonu insanda ilk olarak 1988'de ilaca dirençli epilepsinin tedavisinde kullanılmıştır. Ayrıca tedaviye dirençli depresyonda, anksiyetede ve Alzheimer hastalığında kullanımı gündemdedir. Önceki araştırmalarımızda vagotominin meme kanseri metastazını arttırdığı ve kimyasol olarak vagal aktiviteni arttırılmasının anti-metastatik etki göstrediğini gözlendi. Dolayısıyla bu sonuçlar vagus sinir stimülasyonu kanser tedavisinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Vagus sinirinde bulunana afferent liflerin önemli bir kısmı kapsaisine duyarlıdır. Kapsaisine duyarlı sinir sonlanmalarında vasoaktif özellikte immün sistemi etkileyen P maddesi, Kalsitonin-gen ilişkili peptit gibi nöromediatörler bulunmaktadır.

P maddesi geninin silinmesinin kolon kanserinin gelişimini tetiklediği gösterilmiştir. P maddesi ile ön tedavi yapılmasının malign melanoma büyümesini engellediği ve bu etkiyi anti-tümöral immüniteyi tetikleyerek gösterdiği bulunmuştur. Benzer şekilde P maddesinin kolorektal kanserde sitotoksik immün yanıtı arttırdığı gösterilmiştir. Bağışıklık sisteminin yanı sıra kanser hücreleri de P maddesinden doğrudan etkilenmektedir. Örneğin P maddesinin prostat kanser hücrelerinin motilitesini azalttığı gösterilmiştir. Kanser hücresinin motilitesinin azaltılması metastatik yayılımını da etkileyeceğinden, duysal sinirlerin inhibisyonu ile artan metastaz, P maddesindeki azalmaya bağlı olabilir. Benzer şekilde vagus stimülasyonu duysal sinir sonlanmalarındaki peptit miktarını arttırarak metastazı engelleyebilir. Aerolize P maddesinin sigaraya bağlı tümör gelişimini engellediği bulunmuştur. Daha önceki çalışmalarımızda duysal sinirlerin inaktivasyonunun akciğer metastazını belirgin derecede arttırdığı bulundu. Ayrıca duysal sinirlerin inaktivasyonu ile tümör mikro çevresinde oluşan değişikliklerin tümör hücresinin daha agresif bir kimlik kazanmasına neden olduğu gözlemlendi.

Sonuç olarak, kanser biyolojisinde kat edilen yolun sonu mikro çevreye ulaşmakta ve kapsamı ile tam sayısını henüz göremediğimiz yeni olasılıklara açılmaktadır. Bu olasılıklar arasında, sinir sistemi ile bağışıklık sistemi ve kanser hücreleri arasındaki çok taraflı etkileşimler, hedefe yönelik tedaviler için en önemli umut kaynağıdır. Etkin tedavi yöntemlerinin bulunabilmesi için, kanseri laboratuvarda ürettiğimiz hücrelerle sınırlamamamız, içinde yaşadığı organizma ile birlikte düşünüp, mikro ve makro çevresiyle nasıl etkileştiğini çok iyi anlamamız gerekmektedir. Organizmanın zararlı gördüğü oluşumları ilettiği ilk merci santral sinir sistemidir. Kullandığı en önemli araç da büyük çoğunluğunu vagus sinirinin taşıdığı duysal sinirlerdir. Çok etkin çalışan bu sistemin işlevlerini görürken kullandığı savunma sistemlerinde yer alan yapıların ve moleküllerin anlaşılması ile kanser gelişimi sırasında kanserin lehine olan değişikliklerin belirlenmesi mümkün olacaktır.

Seçilmiş kaynaklar

1. Kiecolt-Glaser JK, Glaser R. Psychoneuroimmunology and cancer: fact or fiction? Eur J Cancer 1999;35:1603-7.
2. Spiegel D, Kato PM. Psychosocial influences on cancer incidence and progression. Harv Rev Psychiatry 1996;4:10-26.
3. Zorrilla EP, Luborsky L, McKay JR, Rosenthal R, Houldin A, Tax A et al. The relationship of depression and stressors to immunological assays: a meta-analytic review. Brain Behav Immun 2001;15:199-226.
4. Sternberg EM. Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. Nat Rev Immunol 2006;6:318-28.

5. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 2008;454:428-35.
6. Wang H, Yu M, Ochani M, Amella CA, Tanovic M, Susarla S et al. Nicotinic acetylcholine receptor alpha7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 2003;421:384-8.
7. Barnes A, Duncan R, Chisholm JA, Lindsay K, Patterson J, Wyper D. Investigation into the mechanisms of vagus nerve stimulation for the treatment of intractable epilepsy, using 99mTc-HMPAO SPET brain images. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2003;30:301-5.
8. Gidron Y, Perry H, Glennie M. Does the vagus nerve inform the brain about preclinical tumours and modulate them? *Lancet Oncol* 2005;6:245-8.
9. Erin N, Boyer PJ, Bonneau RH, Clawson GA, Welch DR. Capsaicin-mediated denervation of sensory neurons promotes mammary tumor metastasis to lung and heart. *Anticancer Res* 2004;24:1003-9.
10. Erin N, Zhao W, Bylander J, Chase G, Clawson G. Capsaicin-induced inactivation of sensory neurons promotes a more aggressive gene expression phenotype in breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2006;99:351-64.
11. Erin N, Korcum AF, Tanrıöver G, Kale Ş, Demir N, Köksoy S. Activation of neuroimmune pathways increases therapeutic effects of radiotherapy on poorly differentiated breast carcinoma. *Brain Behav Immun*. 2015 Aug;48:174-85.
12. Erin N, Barkan GA, Clawson GA. Vagus nerve regulates breast cancer metastasis to the adrenal gland. *Anticancer Res*. 2013 Sep;33(9):3675-82.
13. Erin N, Duymuş O, Öztürk S, Demir N. Activation of vagus nerve by semapimod alters substance P levels and decreases breast cancer metastasis. *Regul Pept*. 2012 Nov 10;179(1-3):101-8.
14. Erin N, Akdas-Barkan G, Harms JF, Clawson GA. Vagotomy enhances experimental metastases of 4THMpc breast cancer cells and alters Substance P level. *Regul Pept*. 2008
15. Mori Y, Cai K, Cheng Y, Wang S, Paun B, Hamilton JP et al. A genome-wide search identifies epigenetic silencing of somatostatin, tachykinin-1, and 5 other genes in colon cancer. *Gastroenterology* 2006;131:797-808.
16. Manske JM, Hanson SE. Substance-P-mediated immunomodulation of tumor growth in a murine model. *Neuroimmunomodulation* 2005;12:201-10.
17. Flageole H, Senterman M, Trudel JL. Substance P increases in vitro lymphokine-activated-killer (LAK) cell cytotoxicity against fresh colorectal cancer cells. *J Surg Res* 1992;53:445-9.
18. Nagakawa O, Ogasawara M, Fujii H, Murakami K, Murata J, Fuse H et al. Effect of prostatic neuropeptides on invasion and migration of PC-3 prostate cancer cells. *Cancer Lett* 1998;133:27-33.
19. Harris DT, Witten M. Aerosolized substance P protects against cigarette-induced lung damage and tumor development. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2003;49:151-7.

Kanser Kök Hücreler ve Kordomalarda Kanser Kök Hücre Varlığı

Ömer Faruk BAYRAK

Normal hücrelerin yaşam süresince sahip oldukları bölünme ve çoğalma düzenlerinin bozulması sonucunda hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına kanser denir. Kanserın başlaması ve ilerlemesi çoklu basamaklardan meydana gelen bir gelişim sürecinin sonucudur. Çevresel faktörlerle birlikte kanserin oluşumunda genetik faktörlerin de önemli rol oynadığı bugüne kadar yapılan çalışmalarla desteklenmiştir

Kordomalar embriyonal notokord kalıntılarından kaynaklanan, genellikle düşük dereceli, nadir görülen, kalsifiye olmuş ve lobüllerden meydana gelmiş aksiyel iskelet boyunca görülen bir kanser türüdür. Bölünme hızları düşük olmakla birlikte metastaz yapabildikleri ve bölgesel yıkım gücünün oldukça yüksek olduğu gösterilmiştir. Kemoterapi ve radyoterapiye karşı oldukça dirençli olmalarının yanı sıra tümörün tekrarlanma oranının da çok yüksek olması kordomayı ölümcül kılmaktadır.

Kanser gelişiminin, hiyerarşik olarak organize olduğu kanser kök hücre modeline göre gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu modelde az sayıdaki kanser kök hücrelerin tümörün devamlılığını sağladığı gibi, farklılaşarak değişik fenotip ve genotipte kanser hücrelerini oluşturduğu savunulmaktadır. Kanser kök hücreler; yetişkin kök hücreler gibi sonsuz bölünme potansiyeline sahip olup tümör içerisinde kendi gibi identik hücre döllerı verebildiğı gibi farklılaşmış yeni hücreler de oluşturabilirler. Malin kanserlerde görülen kemoterapi ve radyoterapi direncinin yanı sıra metastazın da kanser kök hücre özellikleriyle ilişkili olduğu ve ayrıca tümörün relapsından da bu hücrelerin sorumlu olduklarını gösterilmiştir. Kanser kök hücrelerinin yok edilmesi kanserin tedavisinde önemli bir yöntem olarak görülmektedir. Fakat kanserin tedavi edilmesi esnasında kullanılan yöntemler hali hazırda bulunan sistemin ilkin koşullarının değişmesi, bu sistemin var oluşunda ya da var olmalarının sonuçlarında köklü, beklenmedik ve çoğu zaman önceden görülemeyen değişimlere sebep olabilir. Bu değişiklikler DNA üzerinde yeni hasarlar ve dolayısıyla yeni genotiplerin ortaya çıkmasına ve kaotik bir düzensizliğe yol açar. Kanserdeki kaotik davranış şekli farklı parametrelere farklı yanıtlar vermesine neden olur.

Kanserın en etkin tedavi yönteminin keşfi için bu kaotik işleyişin çözülmesi en önemli aşamadır. Bu amaçla çalışmalarımızda kordomalarda da kanser kök hücre varlığı ve bu hücrelerin davranış modellerini belirlemeyi amaçladık.

Pan-EGFR inhibitörleri: HER2+ meme kanserinde yeni bir hedeflenmiş terapi.

Özgür Kütük

*Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD
Adana Dr. Turgut Noyan Uygulama ve Araştırma Merkezi*

HER/EGFR sinyal ileti yolları hücre büyümesi ve sağkalımı, hücre göçü, değişimi ve adhezyonunda görev yaparlar. EGFR/HER1, HER2, HER3 ve HER4 (erbB-1, erbB-2, erbB-3, and erbB-4) proteinlerinden oluşan EGFR/HER ailesinin kanser hücrelerinde ileri derecede ifadelenmesi ya da hiperaktivasyonu, ERK1/2, PI3K/Akt ve JAK/STAT gibi alt yolların disregulasyonu ve aktivasyonu ile beraber hücre ölümüne direnç, artmış invazyon kapasitesi ve agresif tümör fenotipi ile karakterizedir. Tekli ya da ikili küçük molekül inhibitörlerinin klinikte özellikle sonradan edinilmiş direnç ve de novo mutasyonlar neticesinde kısıtlı etki göstermesi afatinib, dacomitinib ve neratinib gibi ikinci jenerasyon tirozin kinaz inhibitörleri olan panEGFR inhibitörlerinin geliştirilmesinin yolunu açmıştır. Bu moleküller HER2+ meme kanserinde yeni bir hedeflenmiş tedavi opsiyonu olarak prelinik ve klinik çalışmalarla değerlendirilmektedir.

Kanser ilaç direnci ve metastaz çalışmalarında transkriptomik ve fonksiyonel genomik entegrasyonu

Özgür ŞAHİN

Bilkent Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Kanser teşhis ve tedavisinde önemli ilerlemeler kaydedilse de; ilaç direnci ve metastaz kanser sebepli ölümlerde önemli etkenlerin başında gelmektedir. Bu noktada çalışmalarımız, transkriptomik ve fonksiyonel genomik entegrasyonu ile meme kanserinde ilaç direnci ve metastazı öngörebilen biyobelirteçlerin ve bu fenotipleri geri çevirebilen özgün ilaç hedeflerinin keşfi üzerine yoğunlaşmaktadır.

Konuşmamın ilk kısmında, meme kanserinin HER2-pozitif alt-grubunda 2013 yılından beri kullanılmakta olan T-DM1 ilacına karşı gelişen direnç mekanizmasını ve bu direnci nasıl kıracağımızdan bahsedeceğim. Kısaca, T-DM1 direncinde özgün ilaç hedeflerinin belirlenmesi amacı ile in vitro dirençli modeller oluşturduk. İlaça dirençli ve duyarlı modellerin fenotipik karakterizasyonu ilaca bağlı mitotik durdurum, apoptoz ve DNA hasarının, dirençli hücrelerde engellendiğini göstermiştir. Yeni-nesil RNA sekanslaması ve onu takiben gerçekleştirilen hedefli siRNA taraması sonucu belirlediğimiz bir genin, siRNA susturumu ya da farmakolojik inhibasyonunun dirençli hücrelerde T-DM1 hassasiyetini artırarak ilaç-ilintili fenotipleri geri kazandırdığını ortaya koymuştur. Bu sonuçlar T-DM1 dirençli in vivo modellerde de doğrulanmış olup, yeni ilaç kombinasyonunun dirençli tümörleri küçülttüğü gözlemlenmiştir.

Konuşmamın ikini kısmında, en agresif meme kanseri alt-grubu olarak bilinen üçlü negatif meme kanserinde uzun kodlanmayan RNAların (lncRNA) akciğer metastazının kolonizasyonundaki rollerinden bahsedeceğim. Kısaca, laboratuvarımızda geliştirdiğimiz insan-fare ve fare-fare ksenograft modellerinde primer ve metastatik tümörler oluşturulmuş ve yeni-nesil RNA sekanslaması ile ekspresyonu anlamlı olarak değişen lncRNAlar, mRNAlar ve mikroRNAlar belirlenmiştir. Bu veriler kullanılarak lncRNA-miRNA-mRNA etkileşim ağları ortaya çıkarılmıştır. Şu anki çalışmalarımız, bu ağlarda merkezi rol oynayabilecek aday genlerin kolonizasyona olan etkilerinin in vitro ve in vivo deneylerle test edilmesi üzerine yoğunlaşmıştır. Bu sayede üçlü negatif meme kanserinde akciğer metastazında rol oynayan hedef ve/veya biyobelirteçler belirlenmiş olunacaktır.

Bu çalışmalar TÜBİTAK 214Z130 ve 214S364 numaralı projeler tarafından desteklenmektedir.

Karaciğer Kansерinde Sistem Biyolojisi Yaklaşımları ile Biyoaktif Molekül Keşfi

Rengöl Çetin Atalay

KanSiL, Enformatik Enstitüsü, ODTÜ

Fosfatidilinositol-3-kinaz (PI3K)/AKT/mTOR hücre sağkalım yolağı birçok kanserde aktif hale gelerek karsinogeneze yer almaktadır. Bu sinyal ağı proteinleri hayatta kalma, çoğalma, büyüme, metabolizma, anjiogenezis ve metastaz dahil olmak üzere geniş bir alanda hücre proteinlerinin işlevlerini düzenlerler. Bu ağıdaki AKT kinazın kilit rolü, geniş bir yelpazede hücre sinyal akışını, RAF/MEK/ERK de dahil olmak üzere çeşitli sinyal yolları olan çapraz iletişimler yoluyla düzenlenmesinden kaynaklanmaktadır. Mevcut hedefe yönelik terapötik ajanların sınırlı klinik başarısı ve farklı kanser tipleri boyunca tümör heterojenitesinin aracılık ettiği zorluklar, hedefe ve kişiye özgü tedavi yaklaşımlarında PI3K/AKT/mTOR yolağının önemini göstermektedir. Bu konuşmada, hedefe özgü kanser ilaç keşfi için hücre proliferasyonunda yer alan diğer yollarla arasındaki karmaşık çapraz iletişime sahip olan PI3K/AKT/mTOR ağına önemi üzerinde durulacak ve örnek aday moleküller tartışılacaktır.

Kanserde yeni ilaç keşfi: Özgün bir palladyum kompleksinin klinik öncesi değerlendirilmesi

Selvi DURMUŞ ERİM

İstinye Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya ABD, 34010 İstanbul

Tedavi opsiyonları bilimsel teknoloji ve anlayış sayesinde hızla genişlemekle birlikte metastatik kanser tedavisinde kemoterapi önemli bir yer tutmaktadır. Bütün kanser tiplerinde hedeflenecek özgün moleküllerinin olmayışı hücre ölümünde etkisi yüksek olan sitotoksik ajanlara olan ihtiyacı devam ettirmektedir. Platin bazlı ağır metal bileşiklerinin kanser tedavisindeki yüksek etkinliği son yıllarda palladium içeren komplekslere de yer açmıştır. Son yıllarda üzerinde çalıştığımız bir grup Pd-komplekslerinden Palladyum (II)-barbitürat ($C_{20}H_{26}C_1N_5O_4Pd$) bileşiği *in vitro* sitotoksik etkinliği ve *in vivo* fare ksenograft kolon kanser modellemesinde oxaliplatine göre ~2kat yüksek tümör inhibisyon kapasitesi ile öne çıkarak uluslararası patent almıştır. Bu bileşiğin daha ileri sitotoksik etki kapasitesi ve *in vivo* prelinik karakterizasyonu çerçevesinde toksisitesi, farmakokinetiği ve ilaç taşıyıcı proteinlerle etkileşimlerini içeren prelinik faz çalışma sonuçlarımız burada sunulacaktır.

Baş-boyun kanserli hastalarda tükürükte epigenetik biyobelirteç arayışı

Semra DEMOKAN

Baş-boyun kanserleri gelişmekte olan ülkeler arasında en sık görülen 6. kanser tipidir. Üst solunum yolundaki çeşitli anatomik bölgeleri ve farklı etiyolojileri kapsayan kompleks bir hastalıktır. Sigara ve alkol kullanımı, etnik köken, yaş ve coğrafik bölge, baş-boyun kanserlerinin gelişimi ile ilişkili olan başlıca etyolojik faktörleridir. Son yıllarda cerrahi, radyoterapi ve kemoterapideki gelişmeler hastaların yalnızca yaşam kalitesini arttırmayı başarabilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar genetik ve epigenetik değişikliklerin kanser gelişiminde etkili olduğu gösterilmiştir. En sık gözlenen ve çalışılan epigenetik mekanizmalardan biri DNA metilasyonudur. Bazı bilinen ya da varsayılan tümör baskılayıcı/protoonkogenlerin promotor bölgesindeki CpG adacıklarında görülen anormal hiper/hipometilasyonların çeşitli kanser gelişim yollarında rol aldığı bilinmektedir. Çalışmalarımızda tümör baskılayıcı özelliğe sahip genlerin, hastaların tümör hücrelerinde sağlıklı hücrelere kıyasla hipermetilasyona bağlı ekspresyon seviyesinde azalma olduğu gözlemlenmiştir. Epigenetik olarak baskılanmış genleri tanımlamak için gen ekspresyon profillemesi, bisüfit dizi analizi ve kantitatif metilasyona özgü PCR yöntemlerini kullanarak elde ettiğimiz genlerin (*KIF1A*, *EDNRB*, *DCC*, *P16*, *hMLH1*, *GNG7*, *CHFR*, *RARB*, *DAPK1*, *RASFF1A*, *NOL4*, *IRE1*) sağlıklı bireylere ait doku ve vücut sıvılarında ifade edildiği, buna karşın hastalara ait materyallerde baskılandığını belirledik. Ayrıca diğer bir çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrasında hastalardan alınan tükürük örneklerinde yine *KIF1A*, *EDNRB*, *DCC* ve *p16* genlerinde meydana gelen metilasyon değişikliklerinin tarama ve erken tanıda yüksek duyarlılık ve özgüllükte kullanılabileceği, tedaviyi yönlendirecek, nüks ya da prognozu belirleyecek potansiyel biyobelirteç olabilecekleri düşünülmektedir. Oral kavitenin malin/premalin lezyonlarının çeşitli alt gruplarında mRNA ekspresyon ve metilasyon arrayler yardımıyla elde edilen moleküler farklılıkların sağlıklı kişilerden elde edilecek veriler bazında belirlenmesi ve elde edilecek aday genlerin non-invaziv tanı yöntemi geliştirmek adına vücut sıvılarında doğrulanması ve erken tanı, tarama ve premalin/malin lezyonların histopatolojik ayırımında kullanılacak yeni metilasyon biyobelirteçlerinin belirlenmesi bir başka çalışmamızda hedeflenmiştir (TÜBİTAK-SBAG-114S497). Bulgularımız, hipermetilasyon ile gen anlatımının sessizleştirilmesinin, tedavi ve yeni biyobelirteçlerin keşfi için ümit veren önemli bir mekanizma olduğunu düşündürmektedir.

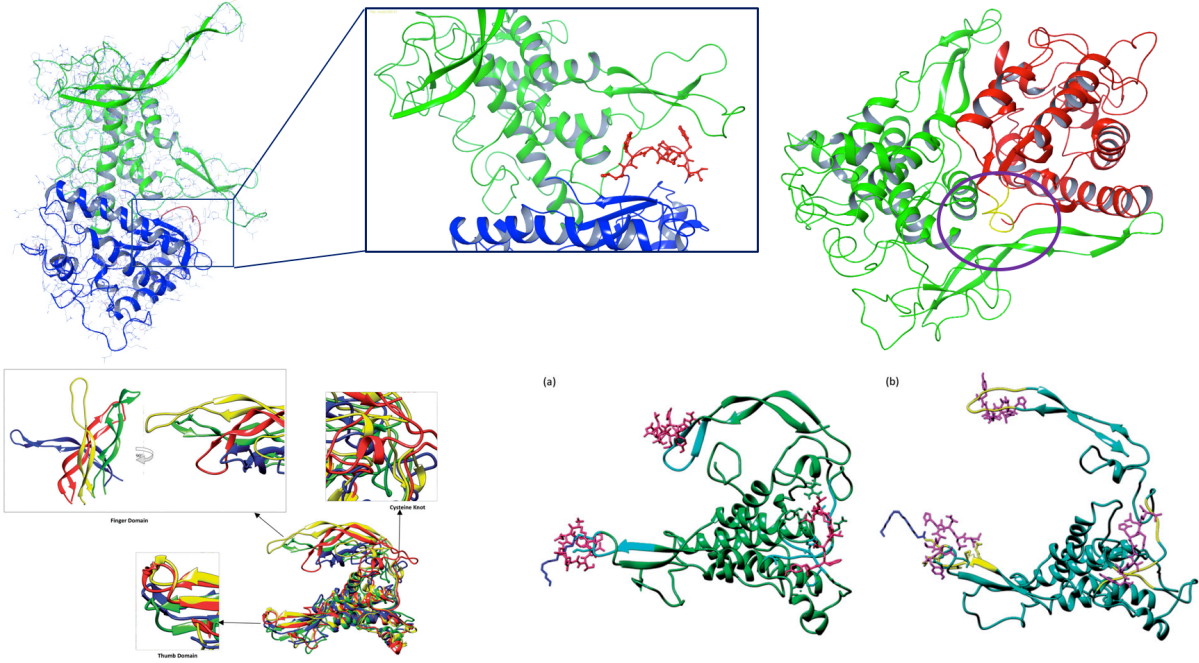
Çok-boyutlu Moleküler Modelleme Yaklaşımları ve Deneysel Teknikler ile Anti-kanser öncü Moleküllerin Belirlenmesi

Serdar Durdağı¹, Shaher Bano Mirza^{1,2}, Aykut Uren³, Ramin E. Salmas¹, Ayhan Ünlü⁴, Murat Şentürk⁵

¹Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Hesaplamalı Biyoloji ve Moleküler Simülasyonlar Laboratuvarı; ²RLE-Electrical Engineering and Computer Science, [Massachusetts Institute of Technology](http://www.mit.edu), MIT; ³Georgetown University Medical Center Lombardi Comprehensive Cancer Center Department of Oncology Department of Biochemistry and Molecular & Cellular Biology; ⁴Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, 5 Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Kimya Bölümü

E-mail: serdar.durdagi@med.bau.edu.tr

Son yıllarda üç boyutlu (3D) yapısı farklı teknikler ile (X ışını kristalografisi, Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) spektroskopisi, Elektron Mikroskopisi, vb.) açığa çıkarılan proteinler ve protein veri bankasından (*protein data bank*, *PDB*) bu proteinlere erişim olanağı, bu verilerin moleküler modelleme çalışmalarında başarılı şablon (template) hedefler olarak kullanılabilmelerine olanak sağlamıştır. Hesaplamalı biyoloji ise, protein-ligant, protein-protein, protein-DNA bağlanmalarının tanımlanması için kullanılan çeşitli simülasyon ve sanal tarama araçları ve algoritmaları, uygun ligantların tahmin edilmesine yardımcı olacak bağlanma verilerinin analizi için istatistiksel yöntemler ve modeller ile yeni ligantların tasarlanmasını kolaylaştıracak moleküler modelleme araçları sunmaktadır. Özellikle son yıllarda yüksek başarımlı hesaplama ve simülasyon tekniklerindeki hızlı gelişmeler birçok fizyolojik ortamın yüksek doğrulukta simüle edilebilmesini mümkün kılmıştır. Bu konuşmada laboratuvarımızda (durdagilab.com) uygulanan protein mühendisliği ve çok boyutlu moleküler modelleme yaklaşımları ile antikanser öncü moleküllerin belirlenmesi ile ilgili aşağıdaki konular detaylandırılacaktır: (i) Wnt3/Wnt3a proteinlerini hedefleyen Klotho-bazlı peptit antagonistlerinin keşfi^[1] (Şekil 1) ; (ii) Yeni- PARP-1 ve CA-IX inhibitörlerinin küçük molekül veri bankalarının sanal taramaları ve yapı bazlı farmakofor (*E-Pharmacophore*) model geliştirilmesi ile keşfi.^[2,3]



Şekil 1. Protein mühendisliği, ve protein-protein docking algoritmaları ile Wnt3/Klotho ve Wnt3a/Klotho etkileşim haritaları çalışılarak Klotho-bazlı Wnt3 ve Wnt3a hedefli küçük peptit antagonistler tasarlanarak sentezlendi ve *in vitro* testler gerçekleştirildi.

Referanslar:

- [1] Mirza, S.B.; Salmas, R.E.; Fatmi, M.Q.; Durdagi, S. *J. Enzy. Inh. Med. Chem.* 2017, 32, 84-98.
- [2] Salmas, R.E.; Unlu, A.; Bektas, M.; Yurtsever, M.; Mestanoglu, M.; Durdagi, S. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2016, doi: 10.1080/07391102.2016.1199328
- [3] Salmas, R.E.; Senturk, M.; Yurtsever, M.; Durdagi, S. *J. Enzy. Inh. Med. Chem.* 2016, 31, 425-433.

Kanserde Eksozomlar

Süreyya BOZKURT

Eksozomlar hücreler tarafından salgılanan ekstrasellüler veziküllerin bilinen en küçük grubunu oluşturan biyoaktif veziküllerdir. 40-100 nm çapında ve çift fosfolipid tabaka ile çevrilidir. Vücutta bulunana hemen tüm hücreler tarafından salınırlar. İçlerinde; proteinleri, lipitleri, mRNA'ları, miRNA'ları ve DNA fragmanları gibi birçok biyomolekül taşırlar.

Eskiden eksozomların yalnız hücrelerden istenmeyen atıkların uzaklaştırılmasında görev yapan veziküller olduğu düşünülüyordu. Ancak bugün gelinen noktada artık biliniyor ki eksozomlar, içerdikleri biyomoleküllerin hücreler arasında taşınmasına aracılık eden veziküllerdir. Bu biyomoleküller vasıtasıyla alıcı hücrede gen ifadelerini düzenlerler. Bu yolla immün regülasyon, hücre farklılaşması, hücreler arası haberleşme, hücre göçü gibi birçok biyolojik fonksiyonda rol alırlar.

Eksozomlar multiveziküler endozomlardan köken alırlar. Eksozom biyogenezinde ilk adım; plazma membranının içeri doğru girinti yaparak endozom oluşturmalarıdır. Erken endozom geç endozoma doğru olgunlaşırken endozom membranının bir seri içe doğru girintiler yapması ve bunların kapanması ile birçok intralümenal veziküller oluşur. Bu noktada endozomlar "Multiveziküler cisimcikler" (MVB) adını alır. MVB'lerin plazma membranı ile kaynaşması sonucu eksozomlar hücre dışına salınırlar.

Eksozomlar kanser hücreleri arasında ve kanser hücreleri ile stroma hücreleri arasında haberleşme ağında görev alırlar. Kanser hücreleri eksozomların içerdikleri biyomoleküllerin fonksiyonu ile immün sistemden kaçabilmekte, immün sistem hücrelerini baskılayabilmekte, tümör mikroçevresinde angiogenezi arttırmakta, ilaç direnci kazanmakta, invazyon ve metastas yapma yetenekleri elde etmektedirler.

Eksozomlar kanserin tanısı, tedaviye verilen cevabın ve prognozun izlenmesinde potansiyel belirteçler olma özelliğindedirler. Çünkü eksozomlar köken aldıkları kanser hücrelerini yansıtır. Ayrıca hemen tüm vücut sıvılarından elde edilebilmeleri sebebi ile de "sıvı biyopsiler" olarak adlandırılmaktadırlar.

Eksozomlar kanser hücrelerinin gelişimi için lokal ve sistemik çevreyi modifiye ettikleri için bunların salınımının engellenmesinin bir tedavi yaklaşımı olarak düşünülmektedir.

Ayrıca Eksozomlar doğal lipozom özelliği taşıdıkları, nano boyutta oldukları ve kanda büyük ölçüde stabil kaldıkları için eksozomlardan faydalanan tedavi yaklaşımları da bulunmaktadır.

Angiogenez miRNA ve Radyoterapinin etkisi

Prof.Dr. Taner ÖZGÜRTAŞ

Gülhane Tıbbi Biyokimya AD/Ankara

Angiogenez Yunanca' dan 'angio' kan damarı, 'genez' ise yapımdan gelir birlikte kullanıldığında vücuttaki kan damarlarının yapımını anlatmaktadır. Doğum sonrası dönemde, Angiogenez onarım maksatlı yara iyileşmesi ve iskemi durumlarında patolojik olarak ise tümör gelişiminde, metastazda ve artiritlerle, diabetik retinopati gibi oküler hastalıklarda önem kazanır(1).

Tüm kan damarları endotelle kaplıdır ve bu yapı dolaşan kanla dokular arasında kritik bir bariyerdir. Kompleks olgun vasküler sistemin gelişimi, endotel hücrelerinin aktivasyonuna, proliferasyonuna ve migrasyonuna ihtiyaç duyar. Ayrıca, perisitler ve vasküler düz kas hücreleri gibi aksesuar hücrelerin endotel hücresi ile sıkı iletişimi kompleks damar ağının oluşumunda önemli rol oynar(1).

Angiogenezin tetiklendiği yada birlikte olduğu bazı patolojik süreçler, kanser, maküler dejenerasyon, psoriasis, diabetik retinopati, trombozis ve artiritler ve ateroskleroz gibi inflamatuvar prosesler olduğu gibi yetersiz angiogenez durumunda iskemik kalp hastalığı, periferik damar hastalıkları ve preeklamsi sayılabilir(2).

MicroRNA' lar post-transkripsiyonal gen ekspresyonlarını kontrol eden kısa non-coding RNA dizileridir. Son yapılan çalışmalarla, 20-22 nükleotidik tek zincir microRNA(miRNA) dizilerinin gen regülasyonunda önemli bir rol oynadıkları keşfedilmiştir. Tek bir miRNA'nın 100 den fazla mRNA transkriptini hedefleyebileceği ve bu sayede mRNA degradasyonu ve instabilitesi gerçekleştirebileceği gösterilmiştir(1). İnsan genom projesinde gösterilen yaklaşık 25.000 genin üçte biri miRNA'lar tarafından düzenlenmektedir(3). Çoğu miRNA'nın yerleşimi non-coding transcriptional birimlerin intronik bölgeleri iken onların sadece bir kaç exonik bölgelerde yer alır(4).

1993 yılında Ambros ve Ruvkun laboratuvarlarında ilk bulunan miRNA Lin-4 tür nematod olan C. Elegans' ta ortaya konmuştur(5). İkinci miRNA Let-7, 2000 yılında yine Ruvkun laboratuvarı tarafından bildirilmiştir(6). miRNA Let-7'nin sineklerden insanlara kadar birçok canlı türünde gözlenmesi ile bilim dünyasında yeni bir dönemin başlangıcı olmuştur.

MiRNA' ların asıl fonksiyonu, translasyonun inhibisyonu veya mRNA' nın yıkımı ile protein sentezinin inhibisyonudur. miRNA'ların kanserdeki rolünü işaret eden ilk yayın, 2002 yılında kronik lenfositik lösemide kromozom 13q14 de lokalize miRNA -15 ve miRNA-16' nın delesyonu ile ilişkilendirilmiştir (7).

Kan hücreleri ve dokulardan heterojen yapıda ve çapları 50nm ile 1um arasında değişen özel taşıyıcılar sentezlenir, bunlara mikropartikül (MP) veya mikrovezikül adı verilir. MP ler devamlı olarak dolaşıma megakaryositlerden, trombositlerden, eritrositlerden, lökositlerden ve endotel hücrelerinden salınır. MP'ler bilayer fosfolipid zarıyla kaplı farklı membran reseptörleri eksprese eden hücreler arası şatıllar gibidir ve içlerinde lipidler, growth faktörler, microRNA'lar ve mitokondriler gibi biyoaktif moleküller taşırlar. MP'ler, tüm vücut sıvılarında bulunur ve %70-90'ı trombosit kaynaklıdır, yarı ömürleri birkaç saattir(8).

İlk miRNA angiogeneze ilişkisi, endotel hücrelerinde miRNA mikroarray yöntemi kullanılarak 2006 yılında gösterilmiştir(9). miRNA'ların damar gelişimindeki rolüne ilişkin ilk kanıt Dicer enzimi eksik farelerdeki yetersiz angiogeneze bağlı hayvanın gebeliğin 12.5 ila 14.5 günlerde ölmesidir. Vasküler gelişimde bireysel miRNA'ların önemi, zebrafish ve farelerde yapılan miRNA genetik modelleriyle anlaşılmıştır. Farede endotele spesifik miR-126'nın delesyonu %50 embriyonik ölümle sonuçlanmaktadır. Birçok miRNA kesin organa spesifik ekspresyon paternleri göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, yaklaşık 200 adet miRNA'nın endotel hücresi tarafından eksprese edildiği gösterilmiştir(10). Normal şartlar altında endotel hücrelerinde yapılan 200 miRNA'dan 28'nin çok yaygın olarak sentezlendiği gösterilmiştir. Bunlar, miR-15b, -16, -20, -21, -23a, -23b, -24, -27a, -29a, -30a, -30c, -31, -100, -103, -106, -125a, -125b, -126, -181a, -191, -199a, -221, -222, -320, -let-7, let-7b, let-7c, let-7d(1). Endotel hücrelerinden miRNA sentezinin düzenlenmesi gelen değişik sinyallere karşı duyarlı bir sistemle düzenlenmiştir. Bu konuda ilk önemli faktör hipoksidir, örnek olarak hipoksi tüm endotel hücrelerinde miR-210 sentezini tetikler. Ancak yeterli bir miR-210 sentezi için HIF1α varlığı mutlak gereklidir(11). İkinci olarak VEGF miRNA'ların ekspresyon seviyesini modüle eden önemli faktörlerden biridir. İnsan tümörlerinde VEGF tarafından ekspresyonu artırılan miRNA'lar hsa-miR-155, -191, -21, -17-5p, -18a, -20a'dır (12). Birçok sitokin de miRNA salınımını tetikleyerek değiştirdiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Endotel hücreleri IL-3 veya bFGF'ye tabi tutulduğunda, miR-296, miR-126 ve miR-221/222 miRNAlarının ciddi down-regüle olduğu gösterilmiştir(13). Bir diğer önemli faktörün onkojenik transkripsiyon faktörü olan c-Myc olduğu düşünülmektedir. c-Myc, miR-17 ~ 92 takımını aktive eder bu mekanizma tümör oluşumunda önemli rol oynar(14). c-Myc'nin yüksek olduğu durumda, miR-17-5p, miR-18, miR-19, miR-20, miR-92 ve miR-106 nolu miRNA'ların up-regüle olduğu izlenmiştir. Angio-miRNA lar sıklıkla endotel için iyi tanınan hedef genlere bağlanarak beklenen etkilerini ortaya çıkarırlar. miR-126 vasküler bütünlüğü tamamlayan bir miRNA olarak tanınırken miR-221/222 nin over-ekspresyonu anti-angiojenik etki olarak kendini gösterir. miR-23 ve miR-27 angiogenezi artırırken, miR-17-92 clusterın etkisi daha karmaşıktır. Zaman zaman pro ve anti angiojenik etkiler gösterirler.

Pro- angiojenik ve hipoksi ile uyarılan miRNA' lar

Endotel hücrelerinin VEGF-A' la uyarılması sonucu miR-[191](#), [-155](#), [-31](#), [-17](#)-5p, -18a ve miR-20a zamana bağlı miR-126 ve -222 ise küçük değişikliklerle eksprese olurlar. Yine VEGF-A ve bFGF ile proanjiojenik miR-130a' nın ekspresyonu artar (15). VEGF-A ve EGF varlığında pro-angiojenik miR-296' nin ekspresyonu beyin endotel hücrelerinde önemli ölçüde artar. VEGF-A etkisi ile miR-101' in down regülasyonu angiogenezi artırır, bu birliktelik VEGF-A, miRNA ve DNA histon metilasyonunun ilk ilişkisini göstermektedir(16).

Hipoksi, miR-210 ve miR-424 ekspresyonunu artırarak EC üzerinde angiojenik aktiviteyi artırır(17). Ayrıca miR-210' nun aşırı ekspresyonu HUVEC te migrasyonu ve tüp formasyonunu artırır. Yine miR-424, cullin2' yi inhibe ederek HIF1α yı artırmak yoluyla angiogenezi tetikler.

Anti- angiojenik stimulusla uyarılan miRNA' lar

H2O2, süperoksit anyonu ve hidroksi radikalleri gibi reaktif oksijen species' leri EC' de gelişmeyi inhibe eder ve hücre ölümünü artırır. Bunlarla alakalı olarak, miR-217 EC üzerinde aging etkisi oluşturur. MiR-217' nin inhibisyonu, yaşlı EC üzerinde senescence' i durdurur ve angiojenik aktiviteyi artırır(18). Diabetik ortamda endotel hücrelerinde VEGF' in direk regülatörünün miR-93 olduğu gösterilmiştir.

miRNA ile Angiogeneze Terapatik Yaklaşımlar

miRNA' ların hastalıklarla ilişkisi incelendiğinde kimi durumlarda beklenmedik şekilde arttığı kimi zamanda istenmeyen düşüklükleri ile karşılaşılmalıdır. Genel terapatik yaklaşımlar; ya antisense – mediated inhibisyon yada miRNA mimetikleri kullanılarak miRNA replasmanı şeklindedir. Kimi hastalık durumlarında upregule olmuş olan miRNA' ların anti-miRNA' larla hedeflenerek etkisiz kılınması hastalıklarda yeni bir yaklaşım olabilir. Örnek olarak **antagomir**' ler ki (hücrel uptake' i kolaylaştırmak için kolesterolle konjuge edilmiş anti-miRNA' lar) kanserdeki oncomir' leri bloke etmek için kullanılabilir.

Diğer taraftan miRNA' ların down regülasyonu da hastalığın ortaya çıkmasına neden olabilir, özellikle kanserlerde. Bu durumda sentetik miRNA' lar, siRNA gibi, kullanılarak RISC kompleksi tarafından tanınması ve eksiğin giderilmesi tedavi şansını sağlayabilir. Ancak bu yaklaşım, stabilite ve hastaya uygulanış yolu itibarıyla üzerinde daha detaylı çalışılmasını gerektirmektedir.

Biz de son çalışmamızda, radyoterapinin olumsuz etkilerini önleyebilmek düşüncesi ile ratlara önce VEGF ve arkasından radyasyon uyguladık. Patolojik incelemede VEGF uygulanmayan grupta radyoterapinin olumsuz etkilerinin daha fazla olduğunu gözlemleyip patolojik olarak raporladık. Arkasından, elimizdeki doku örneklerinden angiogeneze ilgili seçtiğimiz miRNA ların ekspresyon düzeylerine baktık. Buna göre, radyasyonun olumsuz etkilerine karşı VEGF uygulamanın miRNA düzeyindeki etkilerini göstermeye çalıştık.

Günümüzde miRNA' larla ilgili problemler her ne olursa olsun terapatik hedefler olarak büyük potansiyeli olan bir konu olduğu düşünülmektedir

Referanslar

- Caporali A, Emanuelli C. MicroRNA regulation in angiogenesis. *Vascular Pharmacology* 2011; 55: 79-86.
- Suarez Y, Sessa WC. MicroRNAs as novel regulators of Angiogenesis. *Circ Res* 2009; 104: 442-54
- Yang W, Lee DY, Ben-David Y. The roles of microRNAs in tumorigenesis and angiogenesis. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 2011; 3(2): 140-55
- He L, Thomson JM, Hemann MT, Hernando-Monge E, Mu D, Goodson S, Powers S, Cordoncardo C, Lowe SW, Hannon GJ, Hammond SM. A microRNA polycistron as a potential human oncogene. *Nature* 2005;435: 828-33
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The elegance heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs qith antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-54
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-6
- Eiring AM, HarbJG, Neviani P, Garton C, Oaks JJ, Spizzo R, Liu S, Schwind S, Santhanam R, Hickey CJ. MiRNA -328 functions as an RNA decoy to modulate hnRNP E2 regulation of MRNA translation in leukemic blasts. *Cell* 2010; 140(5): 652-65
- Burnouf T, Chou ML, Goubran H, Cognasse F, Garraud O, Seghatchian J. An overview of the role of microparticles/microvesicles in blood components: Are they clinically beneficial or harmful? *Transfusion and Apheresis Science* 2015; 53: 137-145
- Poliseno L, Tuccoli A, Mariani L, Evangelista M, Citti L, Woods K, Mercatanti A, Hammond S, Rainaldi G. MicroRNAs modulate the angiogenic properties of HUVECs. *Blood* 2006; 108: 3068-71
- Heusschen R, Van Gink M, Griffioen AW, Thijssen VL. MicroRNAs in the tumor endothelium: Novel controls on the angioregulatory switchboard. *Biochim biophys Acta* 2010; 1805: 87-96
- Kulshreshtha R, Ferracin M, Wojcik ŞE, Garzon R, Alder H, Agosto-Perez FJ, Davuluri R, Liu CG, Croce CM, Negrini M et al. A microRNA signature of hypoxia. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 1859-67
- Chan JA, Krichevsky ÂM, Kosik KS. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. *Cancer Res* 2005; 65: 6029-33
- Dentelli P, Rosso A, Orso F, Orso E, Olgasi C, Taverna D, Brizzi ME. MicroRNA-222 controls neovascularization by regulating signal transducer and activator of transcription 5A expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1562-68
- O'Donnell KA, Wentzel EA, Zeller KI, Dang CV, Mendell IT. c-Myc regulated microRNAs modulate E2F1 expression. *Nature* 2005; 435: 839-43
- Chen C, Gorski DH. Regulation of angiogenesis through a microRNA (miRANA-130a) that down-regulates antiangiogenic homeobox genes GAX and HOXA5. *Blood* 2008; 111: 1217-26
- Smits M, MirSE, Nilsson RJ, van der Stoop PM, Niers JM, Marquez VE, Cloos J, Breakefield XO, Krichevsky AM, Noske DP, Tannous BA, Würdinger T. Down-regulation of miR-101 in endothelial cells promotes blood vessel formation through reduced repression of EZH2. *PLoS One* 2011; e16282
- Fasanora P, D'Alessandra Y, Di Stefano V, Melchionna R, Romani S, Pompilio G, Capogrossi MC, Martelli F. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3. *J Biol Chem* 2008; 283: 15878-83
- Menghini R, Casagrande V, Cardellini M, Martelli E, Terrinoni A, Amanti F, Vasa-Nicotera M, Ippoliti A, Novelli G, Melino G, Lauro R, Federici M. MicroRNA 217 modulates endothelial cell senescence via silent information regulator1. *Circulation* 2009; 120: 1524-32