

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOLON KANSERİNDE VE İLAÇ DİRENCİNDE  
OTOFAJİNİN ROLÜ**

**Uzm. Dr. ZEKİYE SULTAN ALTUN**

**TEMEL ONKOLOJİ DOKTORA TEZİ**

**İZMİR-2011**

**TEZ KODU:DEU.HSI.PhD-2004970101**

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# **KOLON KANSERİNDE VE İLAÇ DİRENCİNDE OTOFAJİNİN ROLÜ**

TEMEL ONKOLOJİ DOKTORA TEZİ

Uzm. Dr. ZEKİYE SULTAN ALTUN

Danışman öğretim üyesi: Prof. Dr. A. UĞUR YILMAZ

(Bu araştırma DEÜ Bilimsel Araştırma Daire Başkanlığı tarafından 2009 KB SAĞ 008  
nolu proje olarak desteklenmiştir.)

**TEZ KODU:** DEU.HSI.PhD-2004970101

## İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA NO</u>
İÇİNDEKİLER	İ
TABLO DİZİNİ	İİİ
ŞEKİL DİZİNİ	İV
RESİM DİZİNİ	İV
KISALTMALAR	V
TEŞEKKÜR	VI
ÖZET	1
ABSTRACT	2
1.0. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2.0 GENEL BİLGİLER	5
3.0. GEREÇ VE YÖNTEMLER	21
3.1. ARAŞTIRMANIN TİPİ	21
3.2. ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI	21
3.3. ARAŞTIRMANIN EVRENİ VE ÖRNEKLEMİ	21
3.4. ARAŞTIRMANIN MATERYALİ	21
3.5. ARAŞTIRMANIN DEĞİŞKENLERİ	21
3.6. VERİ TOPLAMA ARAÇLARI	21
3.6.1. ARAÇ VE GEREÇLER	21
3.6.1.1. GEREÇLER	21
3.6.1.2. SARF MALZEMELERİ	23
3.6.1.3. KİTLER VE REAKTİFLER	24
3.6.2. YÖNTEMLER	25
3.7. ARAŞTIRMA PLANI VE TAKVİMİ	30
3.8. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ	31
3.9. ARAŞTIRMANIN SINIRLILIKLARI	31
3.10. ETİK KURUL ONAYI	31

4.0.	BULGULAR	32
5.0.	TARTIŞMA	47
6.0.	SONUÇ ve ÖNERİLER	53
7.0.	KAYNAKLAR	54
8.0	EKLER	58
8.1.	ETİK KURUL RAPORU	59
8.2.	ÖZGEÇMİŞ ve YAYIN LİSTESİ	60
8.3.	TEZDEN YAPILAN YAYINLAR	70

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onkoloji Anabilim Dalı,  
Temel Onkoloji Doktora programı öğrencisi Zekiye Sultan Altun'un  
**‘ KOLON KANSERİNDE VE İLAÇ DİRENCİNDE OTOFAJİNİN  
ROLÜ ’** konulu Doktora tezini 14.01.2011 tarihinde başarılı olarak  
tamamlamıştır.

BAŞKAN

ÜYE

ÜYE

ÜYE

ÜYE

## TABLO DİZİNİ

<b>Tablo No</b>		<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	<b>Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar</b>	<b>22</b>
<b>Tablo 2</b>	<b>Çalışmada Kullanılan Hücre Hattı, Kitler ve Reaktifler</b>	<b>24</b>
<b>Tablo 3</b>	<b>Beclin-1 protein ekspresyon sonuçları</b>	<b>34</b>
<b>Tablo 4</b>	<b>Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri</b>	<b>35</b>
<b>Tablo 5</b>	<b>Cinsiyet ve yaş ortalamasına göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>37</b>
<b>Tablo 6</b>	<b>Tümör yerleşimine göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>38</b>
<b>Tablo 7</b>	<b>Tümör histoloji ve boyutuna göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>39</b>
<b>Tablo 8</b>	<b>Lenfatik invazyona göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>40</b>
<b>Tablo 9</b>	<b>Vasküler invazyona göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>41</b>
<b>Tablo 10</b>	<b>Lenf Nod varlığına göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>42</b>
<b>Tablo 11</b>	<b>Patolojik T göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>43</b>
<b>Tablo 12</b>	<b>Patolojik diferansiasyona göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>44</b>
<b>Tablo 13</b>	<b>Metastaza göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>45</b>
<b>Tablo 14</b>	<b>Patolojik evreye göre beclin-1 ekspresyonu</b>	<b>46</b>

## **ŞEKİL DİZİNİ**

<b>Şekil No</b>		<b>Sayfa No</b>
Şekil 1	Otofajik işlemin şematik gösterimi	8
Şekil 2	Elektron mikroskopik olarak otofajinin gösterilmesi	9
Şekil 3	Otofajiyi regüle eden sinyal yolları	11
Şekil 4	Otofajiyi regüle eden sinyal yolları	15
Şekil 5	SHSY5Y hücrelerine 24 saat Paraquat uygulaması sonrasında beclin-1 protein ekspresyonu	32
Şekil 6	Doku örneklerinde ilk denemeler	32
Şekil 7	Kolon kanseri olgularından elde edilen iki normal doku ve bir tümör dokusu örneğinde beclin-1 protein ekspresyonu	33
Şekil 8	Kolon kanseri olgularından elde edilen normal doku (N) ve tümör dokusu (T) örneğinde beclin-1 protein ekspresyonu	33
Şekil 9	Kolorektal kanser doku örneklerinde Beclin-1 ekspresyonu	34

## **RESİM DİZİNİ**

<b>Resim No</b>		<b>Sayfa No</b>
Resim 1	Örneklerin elektroforetik olarak yürütülmesi	27
Resim 2	Örneklerin elektroforez olarak yürütülmesi sonrasında jelden proteinlerin membrana transfere hazırlanması	28
Resim 3	Transfer edilmiş örneklerin membrandaki görünümü	29

Resim 4 Membranların blokasyonu, primer ve sekonder 30  
antikor ile inkübasyonu

### ***KISALTMALAR***

Kolorektal kanser	KRK
5-flourasil	5-Fu
Survey, Epidemiyoloji ve Sonuçlar	SEER
Fosfatidil inozitol	PI3
Fosfatidiletanolamin	PE
Rapamisininin memeli hedefi	mTOR
Kalsiyum	Ca
Fosfatidil inozitol 3-kinaz	PI3K
Death assosiye protein kinaz	DAPk
Bif-1	Endofilin B1
Nükleer faktör kB	NFKB



## TEŞEKKÜR

*Temel Onkoloji Doktora eğitimim süresince, en iyi şekilde yetişmemi sağlayan, bu tez çalışmasının planlanması ve yürütülmesi yanı sıra her aşamada yardım ve desteğini gördüğüm değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ahmet Uğur Yılmaz başta olmak üzere, Onkoloji Enstitü müdürümüz Sayın Prof. Dr. Münir Kınay'a;*

*Bu tezin ve diğer bilimsel çalışmalarda her zaman varlığını ve desteğini hissettiğim sevgili ve değerli hocam Sayın Prof. Dr. Nur Olgun'a ,*

*Bu tezin baş mimarlarından ve akademik gelişimimde önemli katkıları olan sevgili Doç. Dr. Şermin Genç'e;*

*Bölümde birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve manevi desteği ile her zaman varlığını hissettiren sevgili Prof. Dr. Safiye Aktaş'a;*

*Kolorektal kanser hasta doku örneklerinin toplanarak çalışılmasını organize eden çok değerli biyokimya hocam Prof. Dr. Gülgün Oktay'a ve dokuların hazırlanmasında emekleri bulunan sevgili arkadaşım Yard. Doç. Dr. Zahide Çavdar'a;*

*Hastalardan doku örneklerinin özenle seçilerek cerrahi olarak çıkarılmasını sağlayan başta Prof. Dr. Cem Terzi ve Prof. Dr. Mehmet Füzün olmak üzere değerli genel cerrahi çalışanlarına,*

*İstatistik analizlerin yapılmasında bana yardımcı olan sevgili Dr. Pembe Keskin'e,*

*Temel Onkoloji Anabilim Dalının değerli öğretim üyelerine;*

*Onkoloji Enstitüsü'ndeki diğer öğretim üyelerine ve tüm çalışanlarına;*

*Her zaman yanımda olan ve maddi manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme, sevgisi ile tüm yorgunluk ve sıkıntılarını unutturarak bir yaşam sevinci olan oğlum Yavuz Kerem Altun'a,*

*Gösterdiği sevgi, sabır ve anlayışıyla her koşulda bana destek olan, sevgili eşim Selim Altun'a sonsuz teşekkür ederim.*

*Uzm.Dr. Zekiye Sultan ALTUN*

## KOLON KANSERİNDE VE İLAÇ DİRENCİNDE OTOFAJİNİN ROLÜ

**Zekiye Sultan Altun, Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji  
Anabilim Dalı, İnciraltı, İZMİR.**

### ÖZET

**Amaç:** Kolorektal karsinom dünyada üçüncü en sık gözlenen kanserdir. Otofaji, hücrel proteinlerin otofajik vakuoller aracılığı ile lizozomal degradasyonudur. Otofaji gelişimde, uzun yaşamda ve kanser gibi pek çok hastalığın patogeneğinde büyük rol oynamaktadır. Tümör gelişimi ve uyarılması üzerine bazı etkiler gösterdiği saptanmıştır. Bu çalışmanın amacı, otofajinin, otofaji ilişkili protein beclin-1'in ve kolorektal kanserin klinikopatolojik özellikleri ile ilişkisinin belirlenmesidir.

**Yöntem:** Kolorektal kanser hasta doku örnekleri Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Ana Bilim Dalı'ndan elde edildi. Tümör ve eşlenik normal doku örnekleri 36 kolorektal kanser hastadan elde edildi. Beclin-1 proteini, kolon kanser doku örneklerinde otofaji varlığını göstermek için western blotting yöntemi kullanılarak belirlendi. Beclin-1 ekspresyonu ile invazyon, metastaz ve evreyi içeren klinikopatolojik özellikler arasındaki ilişki araştırıldı.

**Bulgular:** Beclin-1 protein ekspresyonu hem tümör hem de eşlenik normal doku örneklerinin çoğunda saptandı. Hastaların üçünde hem tümör hem de normal doku örneklerinde beclin-1 ekspresyonu saptanmadı. Beclin-1 protein ekspresyonu yalnızca iki hastanın tümör dokusunda ve dört normal doku örneğinde belirlendi. Buna karşın, kolorektal kanser hastalarının klinikopatolojik özellikleri ile beclin-1 protein ekspresyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı.

**Sonuç:** Bu çalışmanın sonuçları otofajinin kolorektal karsinogeneğinde işe karıştığını önermektedir. Genişletilmiş çalışmaların yapılması otofaji ve kolorektal kanser ile ilişkili klinikopatolojik özellikleri belirlemede faydalı olabilecektir.

**Anahtar Sözcükler:** Beclin-1, kolorektal kanser, otofaji, klinikopatolojik özellikler

## THE ROLE OF AUTOPHAGY IN COLON CANCER AND DRUG RESISTANCE

**Zekiye Sultan Altun, Dokuz Eylül University, Institute of Oncology, Basic Oncology Department, Inciralti, IZMIR.**

### ABSTRACT

**Objective:** Colorectal cancer is the third common cancer in the world. Autophagy is a lysosomal degradation of cellular proteins via autophagic vacuols. Autophagy has a major role in pathogenesis of many diseases such as development, long life and cancer. It is confirmed that it has some effects both on tumour development and induction. The aim of this study was to determine the autophagy, related protein beclin-1, and correlation with clinicopathologic characteristics of colorectal cancer.

**Method:** Colorectal cancer patient tissue samples were collected from Dokuz Eylül University Medical Faculty Surgery Department. Tumor and corresponding normal tissue specimens were obtained from thirtysix colorectal carcinoma patients. Beclin-1 protein determined with western blotting detection method, in order to indicate of the existence of autophagy in colon cancer tissue samples. Beclin-1 expression and relationship of clinicopathologic characteristics, including invasion, metastasis and stage, were investigated.

**Results:** Beclin-1 protein expression was determined mostly in both tumour and conjugate normal tissue samples of human colorectal cancer patients. In both tumor and normal tissue samples of three patients showed no expression of beclin-1. Beclin-1 protein expression was determined in only two patient's tumor tissues and four of normal tissue samples. However, any significant correlation was not found among the beclin-1 protein expression and clinicopathologic characteristics of the colorectal cancer patients.

**Conclusion:** The results of this study suggested that autophagy is involved in colorectal carcinogenesis. The largest studies could be beneficial for determination of autophagy and related clinicopathologic characteristics of colorectal cancer.

**Key Words:** Beclin-1, colorectal cancer, autophagy, clinicopathologic features.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kolon kanseri tüm dünyada kadınlar ve erkeklerde görülen kanserler arasında üçüncü en sık gözlenen kanserdir (1). 2009 yılı verilerine göre Amerika Birleşik Devletleri'nde yeni kanser vakalarının % 10 ve kansere bağlı ölümlerin % 9'undan kolorektal kanserler sorumludur. Şu anda kullanılan güncel tedavi rejimlerine karşın 5 yıllık sağkalım %30-40'ı geçememektedir. Araştırmalar kolorektal kanserlerin önlenmesi ve tedavisine yönelik yoğun araştırmalara odaklanılmıştır. Kolorektal kanserde gelişen tedavi direnci bu kansere bağlı ölümlerin ana nedenlerinin başında gelmektedir. Amaç, sınırlı da olsa sağkalım artışı yanında palyasyon yani semptom kontrolü ve yaşam kalitesinde iyileşmedir. Tedavi için hastanın evresine göre cerrahi rezeksiyon, kemoterapi ve radyoterapi uygulanabilmektedir.

Otofaji uzun yıllardır varlığı bilinen ancak mekanizması tam aydınlatılmamış bir hücre ölüm yoludur. Otofaji hücrel proteinlerin otofajik vakuoller aracılığı ile lizozomal degradasyonudur (2, 3). Otofaji gelişimde, uzun yaşamda ve kanser gibi pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Son çalışmalara göre otofajinin kemoterapi, hormon ve radyasyon tedavisine karşı direnç gelişmesinde önemli mekanizmalardan biri olabileceği önerilmektedir. Otofaji, antikanser tedavilerle hasara uğrayan makromoleküllerin, organellerin ve proteinlerin otofajik vakuoller aracılığı ile lizozomal degradasyonu ve yeniden siklusa girmesi ile sonuçlanan bir koruyucu yaşam mekanizmadır. Kanserde tümör gelişimini uyarıcı etki gösterebildiği gibi kemoterapi ilaçlarıyla oluşan hücre ölümünde de rolü olduğu ortaya konmuştur (4-6). Dolayısıyla, otofajinin tedavi uygulanmış kanser hücrelerinde regülasyonunun anlaşılması anti-kanser ilaçların gelişiminde moleküler hedeflerin keşfine yol açabilecektir (7).

Son yıllarda yapılan çalışmalar otofajinin mekanizmasının aydınlatılmasına, burada yer alan proteinlerin belirlenmesine katkı sağlamıştır. Yapılan çalışmalar karsinogenez sürecinde otofajinin rolünü de ortaya çıkarmıştır (8-10). Otofaji aslında besin yetersizliğinde hücrenin canlılığını sağlayan bir mekanizmadır. Yani otofaji kanser oluşumunun başlangıcında uygun olmayan çevresel koşullarda hücrenin hayatta kalmasını sağlamaktadır (8, 11). Tümör progresyonunda da büyüyen tümör kitlesiyle yetersiz kalan besin ve oksijene rağmen yine hücrenin yaşamını idamesine katkı yaparak tümör progresyonuna katılır. Kanser tedavisinde otofajinin yeri ise apoptoz defekti nedeni ile kemoterapiye dirençli kanserlerde, otofaji

indüksiyonu ile tedavi başarısını arttırmaktır (9). Daha önce meme kanserinde yapılan çalışmalarda otofajinin varlığı ve otofajide önemli bir rolü olan ve tümör süpresör bir gen olan beclin-1 proteinin ekspresyonunda azalma olduğu bildirilmiştir (10, 12).

Bu projenin amacı:

- a. Seçtiğimiz kanser türü olan kolorektal kanserinde, otofajinin var olup olmadığının belirlenmesi,
- b. Kolorektal kanserde otofaji ile ilişkili bir protein olan beclin-1'in ekspresyonunun belirlenmesi,
- c. Otofaji ile kolorektal kanser klinik bulguları arasında bir ilişki olup olmadığının belirlenmesidir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### **Kolorektal kanser**

Kolorektal kanser (KRK) en sık kanserlerden biri olup kansere bağlı ölümlerin üçüncü nedenidir (13). KRK etkili bakım ve yaşam biçim değişiklikleri sonucunda batı ülkelerinde insidansı azalmıştır. Buna karşın Çin gibi gelişen ülkelerde ekonomik gelişme ve daha önceki batı yaşam tarzına adaptasyon 20 yıl öncesinden daha fazla bir süredir gelişmiş ülkelerdeki gibi KRK insidansında artmaya yol açmıştır. Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi KRK karsinogenezinde önemli role sahiptir. KRK prognozu özellikle ileri evrede diğer solid tumorlerle karşılaştırıldığında son iki dekatta moleküler mekanizması daha iyi anlaşılmasına karşın prognozda belirgin bir gelişme olmamıştır. Survey, Epidemiyoloji ve Sonuçlar (SEER) program veritabanı analizine göre 5 yıllık survival oranları 1980'lerin başlarında tanı konan hastalar için %56.5'den 1990'ların başlarında tanı konan hastalar için % 63.2 kadar çok ve son zamanlarda erken tanı ve tedaviye bağlı olarak % 64.9'a artış olmuştur (14). Artışın bir nedeni KRK hastaların prognozunun evreye yüksek oranda bağımlı olması olup 5 yıllık survival oranı Dukes A için % 90'nın üzerinde iken, Dukes B için yalnızca % 5'tir. Ne yazık ki, KRK hastaların yalnızca % 10'una erken teşhis konmakta ve çoğu hasta ilerlemiş hastalıkla ortaya çıkmaktadır. Artışın diğer bir nedeni ise KRK'in heterojen olmasıdır (13). 5-flourasil (5-Fu) KRK'in ana tedavi rejimi olarak kalmakla birlikte, oksaliptatin ve irinotekanın girişi ile median tüm survival 10 aydan 18-24 aylara çıkmıştır (15). Kanser biyolojisindeki ilerlemeler, kanser gelişimi, metastazı ve kanser hücrelerinin kemoterapiye

direncindeki moleküler ve hücrel mekanizmaları ile ilgili bilgilerimizi arttırmıştır. Yeni ajanlar ve kombinasyon rejimleri metastatik KKK hastalarda değerlendirilmiştir. Epidermal büyüme faktör reseptörüne karşı IgG1 monoklonal antikoru Cetuximab gibi hedeflenmiş ajanlar çeşitli insan kanser tiplerindeki monoterapi ve kombine kemoterapinin ilgili klinik aktivitesi olarak belirlenmiştir. KKK hastalar için klinik pratikte TNM-evre ve rezeke edilen lenf nod sayıları gibi iyi oluşturulmuş klinik evreleme kriterlerinden oluşan hastalığın klinik ve patolojik evrelemesi hastaşğın değerlendirilmesinde temel alınmaktadır. Bununla birlikte, tümörün biyolojik davranışını ve en faydalı tedavi rejiminin seçiminde onaylanmış prediktif ve prognostik belirteçlerin eksikliği nedeniyle tedavi halen aksaktır ve güncel tedavi planlarının başarısız olabileceği önerilmektedir (15) .

## **OTOFAJİ**

Otofaji işlemi mayalardan memelilere kadar korunmuş bir işlemdir (7). Otofaji besin, oksijen ya da büyüme faktör eksikliği olan hücrelerde gelişir. Otofaji ayrıca örneğin Parkinson, Alzhemier ve Huntington gibi nörodejeneratif hastalıklarda ve gelişimde ve doku yeniden oluşumu sırasında ölen hücrelerde gösterilmiştir (7). Ölen hücrelerde otofajinin keşfi inhibitörü 3 metiladenin ile ilgili bulgularla birlikte, tumor nekrozis faktör uygulanmış T lenfoblastik lösemi hücrelerinde hücre ölümünün gecikmesi ile programlı hücre ölümünün bir tipi olarak belirlenmiştir. Buna karşın maya mutantları otofaji geliştirmede defektif olup açlığa wild tip eşlerine göre daha sensitif olup 3-metiladenin ile ilgili bilgilerin realizasyonu ile 3-metiladenin otofajinin spesifik inhibitörü olmadığını ve bu görüşün yeniden incelenmesi gerektiği ve belli durumlarda otofajinin nedeninden çok hasara karşı cevap olarak programlı hücre ölümüne karşın hücrel defans mekanizması olarak ele alınmasına neden olmuştur (7).

(2) Otofaji hücrel hemostatik mekanizmadır. Otofaji hücrel anabolik ihtiyaçları karşılamak ve açlık durumunda canlılığı devam ettirmek üzere stabil proteinler gibi uzun ömürlü sitozolik makromoleküllerin resiklusunu sağlar. Houskeeping rolüyle hasarlı ya da tehlikeli mitokondri gibi aşırı üretilmiş organelleri uzaklaştırır ve böylece programlanmamış apoptozdan hücreleri korur. Otofaji hücrel bakım mekanizması olmakla birlikte, özel koşullar altında aşırı otofaji nonapoptotik programlı hücre ölümüne yol açabilir (2). Otofaji üç kısma ayrılır (16).

1) Makrotofaji (otofaji) ; sitoplazmanın bir kısmının lizozomla birleşerek otofagozom denilen vezikül oluşur ve içeriği degrade edilir.

- 2) Şaperon bağımlı otofaji; spesifik sitozolik proteinlerin yıkımını için selektiftir.
- 3) Mikrotofaji; invajinasyon, protüzyon ya da lizozomal sınırlayıcı membranın septalaşmasıyla direkt olarak sitoplazmayı lizozom içine alır (16).

Otofajinin moleküler kontrolünü açığa çıkarmada elde edilen son bulgular tumor ve transforme hücrelerin azalmış otofajik kapasite gösterdiğini desteklemiştir (17). Transgenik hayvan modelleri ve kültür hücrelerinde kanser tedavisine cevap olarak otofajik genlerin baskılanması sonrasında ki son bulgular ile otofajinin tümör supresor mekanizma olduğu kuvvetle önerilmiştir. Bununla birlikte kanser gibi kompleks patolojilerde otofajinin rolü açıktır. Diğer bir deyimle otofaji hücrelerin kanseröz olmasını yenmede hazırlıklı mekanizma olabilir ya da kanser hücreleri bazen otofajik kapasitelerini kendi faydaları için kullanabilirler. Eğer öyleyse, otofaji kanserin doku orjinine, kanser gelişim evresine, stromal ve beslenme çevresine ya da tümörün ve kanser hücrelerinin diferansiasyon derecesine göre değişmektedir (17).

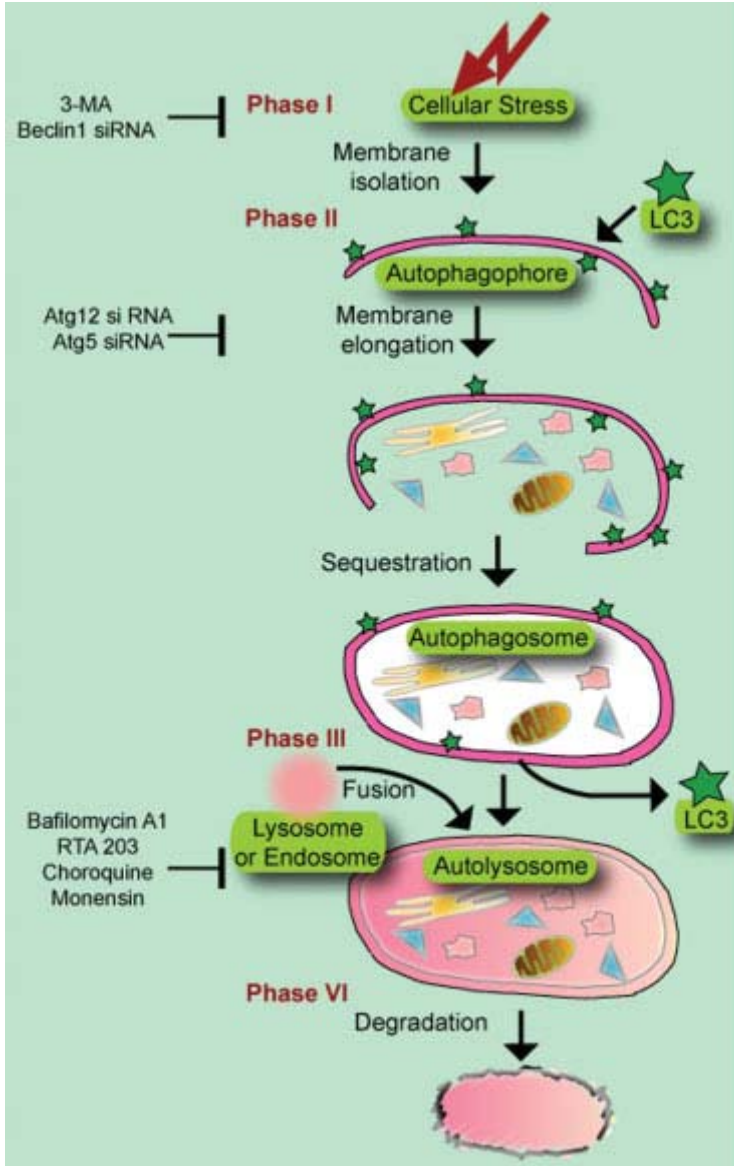
Otofaji hücrel strese yanıt olarak proteinlerin ve organellerin yıkımı ve materyallerin resiklusunu işlemidir (18). Hücre içi uzun ve kısa ömürlü hedef proteinlerin yıkımında iki ana rota, ubiquitin-proteozom yolu ve otofaji lizozom yolu bulunur. Hücre siklus kontrolü ve strese cevap olarak yer alan kısa ömürlü proteinler selektif olarak işaretlenmiştir ve ardından ubiquitin proteozom yoluyla yıkılırlar. Zıt olarak, hücrenin protein proliferasyon kapasitesi içinde yer alan hücrel proteinlerin % 90'ndan fazlası uzun ömürlü olup 3 yolla lizozoma ulaşır: makrotofaji (genelde otofaji olarak refere edilir), mikrotofaji ve şaperon bağımlı otofaji ve hücre içi degradasyon için en önemlisi makrotofaji olarak yer alır. **Otofajik yıkım işlemi 4 fazda ilerler (şekil 1).**

**I-** İndüksiyon fazı: Besin, oksijen, hormonlar, büyüme faktörleri ve enerji durumu, ısı, hücre yoğunluğu, kemo- ve radyoterapik tedavilerin algılanmasında işe karışan sinyal kaskadları aracılığı ile hücrel stres aracılığıyla başlar.

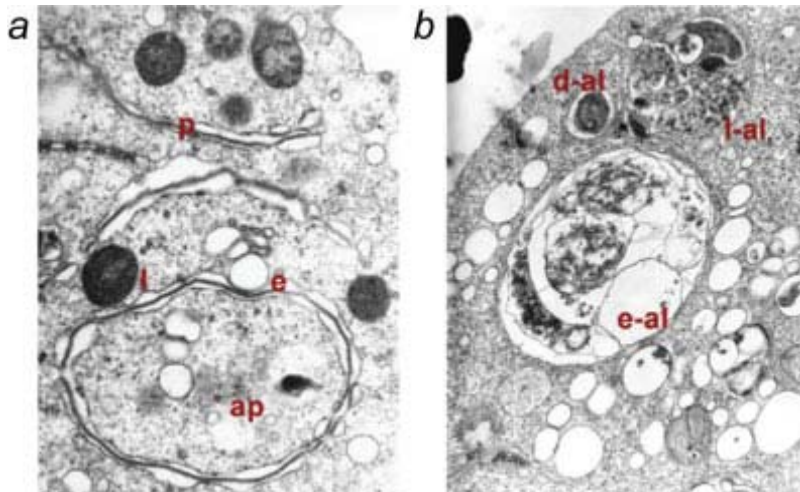
**II-** Otofagofor olarak bilinen izolasyon membranı sitozol ve / veya organellerin bir kısmını çevreler ve böylece otofagozom denen çift membranlı araç oluşturur (şekil 2).

**III-** Dış membran endozom ya da lizozom ile birleşir ve bu hidrolazları sağlar ve otolizozom oluşumu ile sonuçlanır.

**IV-** İç membran, protein ve organel içeriği (otofajik cisim) lizozom enzimleriyle yıkılır ve yeniden sıklusa girer.



Şekil 1. Otofajik işlemin şematik gösterimi





**Şekil 2.** Elektron mikroskopik olarak otofajinin gösterilmesi. a) Rapamisin ile hücrelerde otofaji indüksiyonu: İzolasyon membranının oluşması (p; otofagofor), (ap; otofagozom), (l; lizozom), (e; endozom ile lizozomun füzyonu), (e-al; erken otolizozom), (l-al; geç otolizozom), (d-al; degrade otolizozom). b) Sulforafan ile hücrelerde otofaji indüksiyonu.

Son zamanlarda Korolchuk ve arkadaşları otofajinin yalnızca uzun yaşam ömürlü proteinlerin yıkımında değil aynı zamanda ubiquitin proteozom sisteminde arabulucu olarak işe karışabileceğini önermişlerdir. Otörler otofaji ile inhibe edilen sistemden p53 gibi kısa ömürlü proteinlerin seviyelerini artmış olarak bulmuşlardır (18).

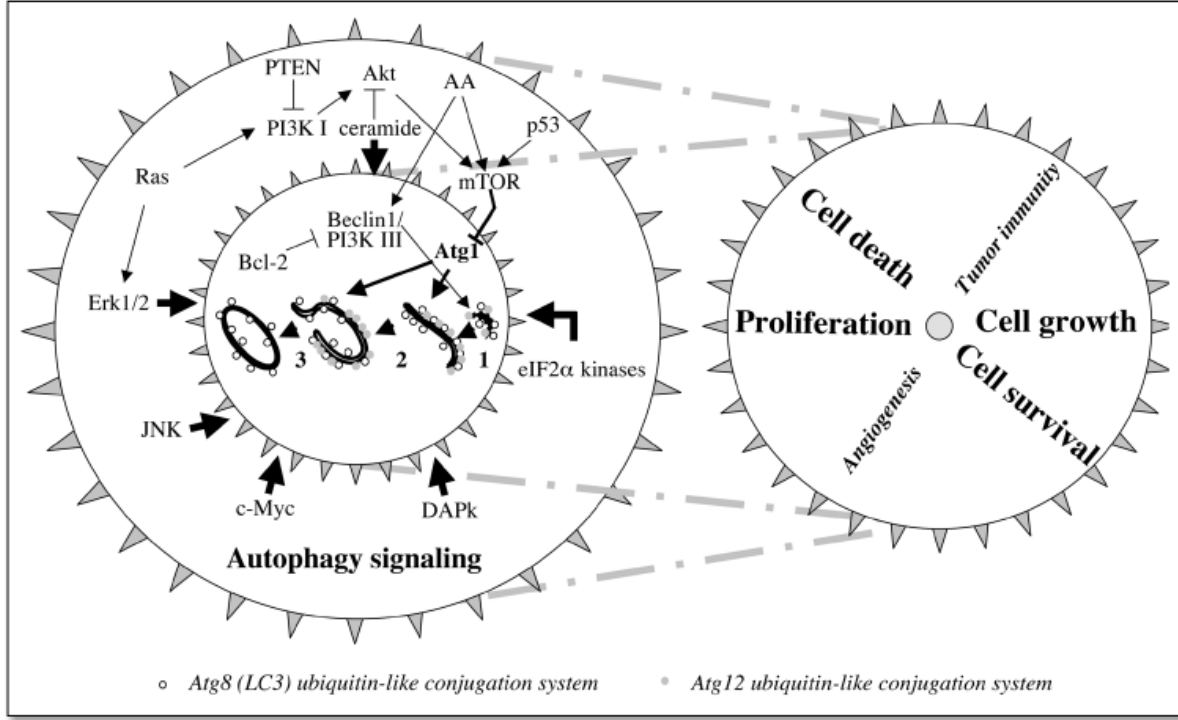
Çift membranlı araç oluşumu otofaji ilişkili proteinlerin (ATG) işe karıştığı kompleks bir işlemdir (18). ATG ailesinden halen insanlarda 16 ve mayalarda 31 adet bulunduğu bilinmektedir. PI3K kompleksi otofaji ilişkili protein Beclin1 ile birlikte indüksiyona katkıda bulunur. Beclin1 sınıf III PI3K kompleksinin üyesi olup fosfatidil inozitol (PI3) oluşumunda önemli rol oynar. Bu lizozomal enzim transportu yanı sıra otofagozomal komponentlerin preotofagozomal yapılara ayrılmasında esansiyeldir. Beclin-PI3K kompleksi sitozole ve trans golgi ağına lokalize olur. Otofagozom oluşumu iki ubiquitin benzeri sistem ve fosfolipid fosfatidietanolamin aracılığı ile meydana gelir. Atg12-Atg5 konjugasyon sisteminde Atg12 proteini E1 ubiquitin benzeri enzim Atg7 aracılığıyla ilk olarak aktive olur, ardından E2 ubiquitin benzeri enzim Atg10'a transfer olur ve sonunda izopeptid bağı tarafından Atg5'e konjuge olur. Atg12-Atg5 konjugatları Atg16 ile büyük protein kompleksleri oluştururlar ve otofagozom oluşumu sırasında izolasyon membranının uzaması ve LC3-fosfatidietanolamin (PE) kompleksinin lokalizasyonunu belirlemek için gereklidirler. İkinci konjugasyon sisteminde, Atg8/LC3 E1 ubiquitin benzeri enzim Atg7 tarafından aktive olan C-terminal glisin rezidüsüne temas etmek üzere sistein proteaz Atg4 tarafından ilk olarak işlenir. E2 ubiquitin benzeri enzim Atg3'e bağlandıktan sonra, LC3 PE'e bağlanır. Bu konjugasyon kompleksi otofagozomal membrana lokalize olur. Daha sonra LC3 PE'den proteaz Atg4'ün etkisiyle tekrar dekonjuge olur. Otofagozomun ve içeriğinin yıkımı için aksesuar lizozomal ya da endozomal hidrolazlar gereklidir. Otolizozomun maturasyonunda H1-ATPaz tarafından asidifikasyon gereklidir. Otofagozom ve lizozom füzyonu mikrotübüller aracılığıyla gerçekleşir. Bundan dolayı, Bafilomisin A1, RTA 203, monensin ya da klorokin gibi H1-ATPaz inhibitörleri kullanarak otolizozom oluşumunun supresyonu göreceli geç evrelerde olmasına karşın, Atg5 ya da Atg12'e karşı PI3K'nın 3-metiladenin ya da küçük interfere edici

RNA tarafından inhibisyonu erken evrelerde otofajiyi zayıflatır. Otofaji antikanser ajanları içeren çeşitli koşullar tarafından indüklenebilir ve en iyi tanımlanmış rapamisininin memeli hedefi (mTOR) olarak sayısız protein kinazlar tarafından düzenlenebilir. Bunun yanında örneğin intrasitozolik kalsiyum (Ca) düzeyleri tarafından otofajinin düzenlenmesi gibi çeşitli diğer mTOR bağımsız otofaji yolları bilinmektedir. İntrasitozolik Ca düzeylerinin artışı eksprese olan kalpain-1 ve kalpain-2'yi içeren kalpainler denilen Ca bağımlı sistein proteaz ailesini aktive eder. Kalpainler tarafından gerçekleştirilen mekanizma otofaji ile interfere olur ve ayrıca tam olarak açıklanmamış olup, membranların fagoforlara ulaşmasının engellenmesinde ve mikrotübül ağ yoluyla sitoskeletal bağlantıların işlenmesinde işe karışabilir (18).

Otofaji algılayıcıları ve efektörleri olmak üzere iki kategoriye ayrılan çok basamaklı bir işlemdir. Efektörler daha ileri olarak tip I ve tip II efektörlere ayrılabilir. Tip-I efektörler preotofagozomal membran ya da fagofor ya da preotofagozomal membrandan otofagozoma kadar otofagozom oluşumuna neden olan basamaklarda (nükleasyon, ekspansiyon, uncoating ve completion) işe karışır. Tip-I efektörler genellikle gelişimsel olarak korunmuş Atg proteinleri ve sınıf III fosfatidil inozitol 3-kinaz (PI3K), Vps34 maya ortoloğu olarak temsil edilirler. Tip-I efektörlerin aktivitesi sınıf III PI3K-Atg6 (Beclin 1) kompleksi ve ubiquitin-benzeri konjugasyon sistemlerinin (Atg8/LC3 ve Atg12 sistemleri) oluşumu ile düzenlenir. Birinci tip efektör, Beclin-1, tümör supresör gen ürünüdür. Bu efektörün monoallelik delesyonu sporadik over ve meme kanserlerinde % 40-75 oranında gözlenir. Son zamanlarda, transgenik hayvan modelleri beclin-1 monoallelik delesyonunun değişik dokularda tümör gelişimini arttırdığını göstermiştir. Tip-II efektörler ise otofagozomların (yani, Lamp-2, Rab proteinleri, SNAREs, SKD1) olgunlaşmasında işe karışır (17).

Sensörler farklı sinyalizasyon yollarında, ikincil mesajcılar ve çevresel değişikliklere cevap olarak ve otofagozom oluşumunun basamaklarını düzenlemede protein kinaz komplekslerinde işe karışır ve efektörlerin üst kısmında meydana gelen otofagozom oluşum basamaklarını düzenler (17). Otofaji sinyalizasyonunda işe karışan birçok sensörler, tumor supresör gen ürünleri (yani fosfatazlar ve kromozom 10 delete tensin homologu (PTEN), TSC1-TSC2, p53, death assosiye protein kinaz (DAPk)) ve onkogenlerdir (yani Akt, Ras). Bu sensörler otofaji için spesifik olmayıp çeşitli hücre fonksiyonlarını kontrol eden yollarda işe karışır. Bundan dolayı otofajiyi regüle eden sinyal yolları kanser hücrelerinde değişen hücre programının bir kısmını oluşturur. Bu otofaji ve diğer hücre özelliklerini resiprokal tarzda etkilemek için

toplu halde hareket eden dişli ile sembolize edilen integratif model ile anlatılabilir (şekil 3) (17).



**Şekil 3.** Otofajiyi regüle eden sinyal yolları. Sinyal yolu kanser hücrelerinde değişen hücre programının bir kısmını oluşturarak otofajiyi regüle eder. Bu resiprokal tarzda otofaji ve diğer hücre özelliklerini etkileyen dişli tarzında hareket eden entegratif model olarak sunulmuştur.

Otofaji için gerekli memeli ATG gen ürünlerinin ekspresyonunun interferansı ve otofajinin farmakolojik inhibitörlerinin uygulanmasıyla hücre stresine yanıtı aracılık etmede otofajinin rolü ve otofaji için gerekli ATG gen ürünlerinin memeli ortologu olan ATG-gen ürünlerinin ekspresyonunun interferansı araştırılmıştır (17). Bu deneyler açlık, büyüme faktörlerinin geri çekilmesi bazı durumlarda otofaji inhibisyonu hücre canlılığını azaltması kaspaz8 knockdown sonrası dağılımı ya da ve z-VAD-fmk gibi inhibitörüne maruziyet yaşamı arttırmakta olduğunu öne sürmektedir. Çok önemli olarak, ATG6 orthologu beclin1'in dağılım bozukluğu insülin benzeri sinyal yolundaki fonksiyon kaybı mutasyonlarla (loss of function) nematodların yaşam ömrünü azalttığı belirlenmiştir. Beclin1 heterozigot olan farelerin tumor gelişimine yatkın olması otofajinin yaşam ömrünü belirlemede ve tumor gelişiminde rol aldığına işaret etmektedir. Bununla birlikte, memeli hücrelerindeki otofagozomların

oluşumunu regüle eden bazı proteinler pleotropiktir. Örneğin beclin 1 (*ATG6*)'in otofagozomlarda lokalize olan memeli ATG-8 ilişkili proteinlerinin aile üyelerinden olan Bcl-2 ile etkileştiği ancak çeşitli hücrel fonksiyonları olduğu ve *ATG5* in otofaji için gerekli olduğu ancak ayrıca Death domain ile Fas ilişkili proteinin interaksyonuyla hücre ölümünü indükleyebileceği bilinmektedir. Bundan dolayı bu önemli deney sonuçları otofajinin stres sırasında hasarı düzelteren ajan ya da faili olup olmadığı son kanıtı olarak ele alınmamalıdır. Ancak daha fazla hücrel homeostaz ve tumorigenezde rol oynayan regülatörlerinin önemli rollerinin demonstrasyonu olarak değerlendirilmelidir. Yine de otofaji antikanser tedaviye yanıt olarak değişik kanser hücrelerinde otofaji görünmekle birlikte otofajiyi regüle eden yolların hücrel homeostaz ve tumorigenezle ilişkili olarak hücre ölüm ya da defans programı olup olmadığının ve antikanser ajanların geliştirilmesinde moleküler hedeflerin keşfinde otofajinin regülasyonunun anlaşılması önemlidir (17).

### **Otofajinin Kanserdeki Mekanizması**

Otofaji her bir hücrede bazal düzeyde survival için hücrelere komponentleri ve enerjiyi sağlamak için yer alır (18). Otofaji aminoasit ve diğer hücrel yapıları sağlar ve tumor gelişimini sağlayabilir. Otofaji inhibisyonu tumor gelişimini önleyici ideal araç olarak görünmektedir. Bununla birlikte, otofajinin blokasyonu ile zıt etki olarak tumor sensitivitesine neden olduğu tanımlanmıştır. Otofajinin etkisi tumorün iç özelliklerine ve sitotoksik tedavinin doğasındaki kombinasyona bağlı olarak manüple edilebilir. Dolayısıyla beklendiği gibi otofajinin regülasyonu tumor gelişimini, metastazını ve tedavi direncini, tumorün ve sitotoksik tedavi şemalarının kişisel özellikleri faydalı ya da istenmeyen sonucu belirleyebilir (18).

Otofajinin dual fonksiyonu hücrel ve ekstrasellüler olayların her ikisine de bağlıdır. Bu nedenle otofaji her bir hücrede bireysel olarak ele alınmalıdır (18). Tumor gelişimi sırasında transforme hücreler, mikroçevrelerindeki değişim de olduğu gibi hücre içi değişikliklere maruz kalır. Bu değişiklikler otofaji indüklü hücre ölümünde karar verici faktör olarak gözükmektedir. Onkojenik transformasyon tumor gelişimindeki ilk basamak olup, aşırı büyüme faktör sinyalizasyonu ve yapısal PI3K/AKT/mTOR aktivasyonundan sorumludur. Bu gibi koşullarda, protein sentezi ve proliferasyonu artarak hücrede enerji arzını artırır. Otofaji enerjinin esas kaynağı olarak mTOR'un yapısal aktivasyonu ile bloke olduğunda transforme hücreler çoğu kez metabolik katastrofi durumuna ulaşır. Ek olarak, transforme hücreler çoğalıp solid tumor oluşturduğunda, tumor kitlesi içindeki hücreler için besin yetersiz hale

gelir ve hücreler metabolik strese girer. Yalnızca tumor progresyonunun ileri evrelerinde anjiogenez tamamlanır ve tümör hücrelerine yeterli kan temini sağlar. İlginç olarak, tümör kitlesinin metabolik streste olduğu damarlanmamış bölgeler, otofajik makineyi aktive eder. Benzer olarak, memeli epitel hücrelerinin 3 boyutlu morfogenez çalışmaları otofajinin sadece santral asiner hücrelerde metabolik stresin arttığı koşullarda aktive olduğunu göstermiştir. Bundan dolayı, insan solid tümörlerindeki bir özellik olarak, otofaji metabolik stres altındaki transforme hücrelerde indüklenir. Otofaji aktivasyonu, tumor survivalını arttırmadaki benzer rolü ile enerji düzeylerinin düzenlenmesi ile bu hücrelere çoğalma avantajı sağlar.

Otofaji normal hücrenin malign hücreye dönüşmesini hasarlı organellerin yıkımını sağlayarak ve hücrel stresini azaltarak ya da tumor oluşumunu arttıran spesifik proteinleri yıkarak engeller (19-20). İnsan tümörleri sıklıkla PI3-kinaz yolunda mutasyon göstermekte bu da mTOR aktivasyonu ve sonuçta otofaji baskılanmasına yol açmaktadır (19). Deneysel setler ve fare tumor modelleri otofajinin tumor hücrelerinde radyasyon tedavisi ya da kemoterapi yoluyla indüklenebileceğini göstermektedir (19).

Bazı veriler otofaji fonksiyonlarının survival mekanizması gibi davrandığını önermektedir. Örneğin otofajinin spesifik ilaçlarla inhibisyonu deneysel modellerde malign glioma hücrelerinin radyosensitivitesini arttırmaktadır (19). Otofaji inhibisyonu ayrıca apoptozis indüksiyonunu arttırmakta, tümör regresyonunu arttırmakta ve lenfoma fare modelinde tümörün aşırı gelişiminde gecikmeye neden olmaktadır. Otofaji yani hücreleri ölümden kormaktadır. Otofajinin rapamisin ile indüksiyonu çeşitli tümör hücre hatlarını apoptozis indüksiyonundan korması nu hipotezi desteklemektedir (19). Adjuvan tedavide otofaji inhibitörleri kanser hastaları için apoptozisi indükleyen antikanser tedavilerinin etkisini artırır. Zıt olarak apoptozisi bozulmuş hücrelerde yapılan deneyler doğal tipteki hücrelerdeki otofajinin indüksiyonundan radyasyona daha hassas olduklarını göstermiştir (19). Bu radyosensitivite, klonojenik survival assay kullanılarak radyasyon sonrası koloni oluşturabilen hücrelerin oranının ölçülmesi ile belirlenmiştir. Bu gibi ölçümler yalnızca hücre ölümünden etkilenmez aynı zamanda otofaji sırasında oluşması beklenen etkiler olan proliferasyonda gecikme ya da durmadan da etkilenir (19). Otofaji survival mekanizması olabilir, belli bir süre klonojenik potansiyeli olan hücreleri korur ve azaltır. Bu farklı bulguların muhtemel açıklaması otofajinin hücre ölümü ile sonuçlanmadan önce otofajinin belli bir eşik değere ulaşmasının gerekliliğidir. Öyleyse bu durumda adjuvan tedavi olarak otofaji indüksiyonu antikanser tedavilerin etkisini arttırabilir. Bu fikir çizgisinde mTOR inhibitörlerinin klinik

uygulanması metastatik böbrek ya da meme kanseri olan hastaların uzamış survivalı ile sonuçlanmıştır (19). Bu veriler, otofajinin tedavideki rolünü tam olarak açıklayamamakta, mTOR inhibisyonunun antitümör etkisinin hücre siklus regülasyonu ya da translasyonunda olduğu gibi rolünü yansıtabilmektedir. Tedavinin indüklediği otofajinin hücre ölüm mekanizması ya da tumor hücrelerinin yaşama mekanizması olup olmadığı tam olarak halen açık değildir (19).

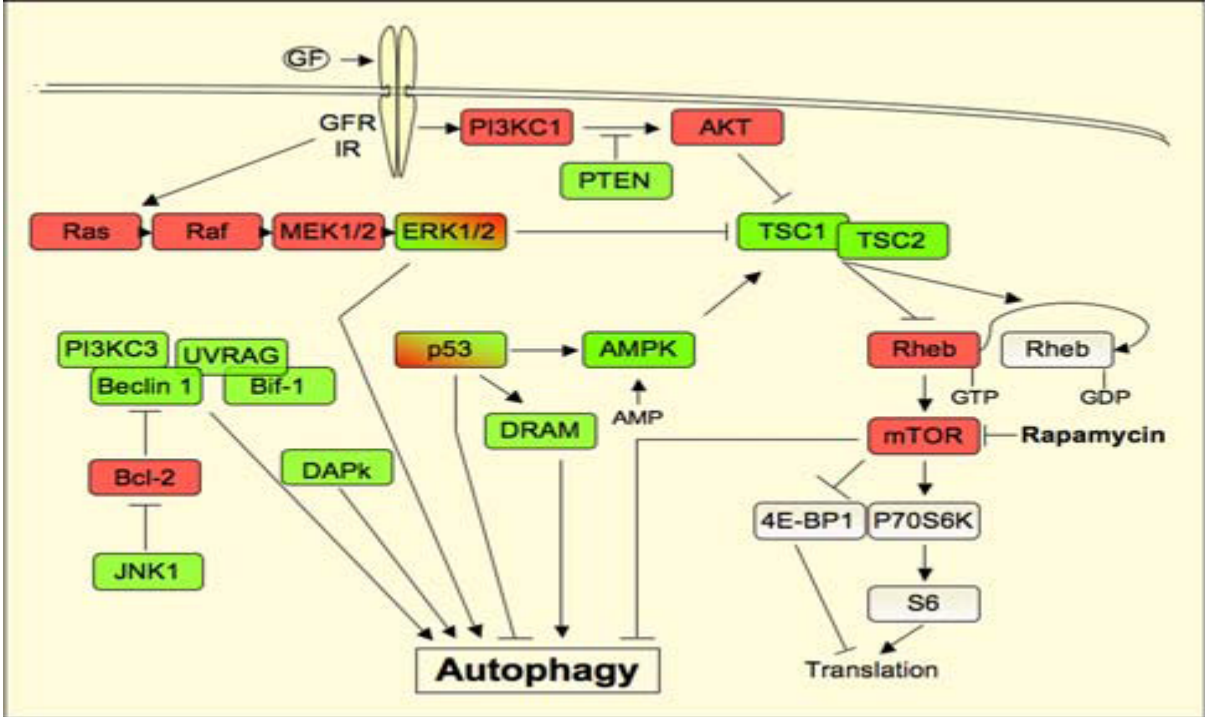
### **Otofajiyi Düzenleyen Tumor Supresör Genler ve Onkogenler**

Otofajiyi kansere bağlayan güçlü endikasyonlardan biri bazı otofajik genlerin ya da otofajik işlemin, tumor supresörler ya da onkogenlerin fonksiyonunu regüle eden genler ile ilgili bulgularıdır (21). Çeşitli tumor supresörler (PTEN, TSC1-TSC2, p53, and DAPk) otofaji indükleyicisi olup, çeşitli otofaji inhibitörleri (Akt, Ras) onkojenik aktivite gösterirler.

### **Beclin-1 ve Regülatörleri**

Beclin 1, yeni Bcl-2-etkileşen sarmal protein olarak orijinal olarak tanımlanmıştır (21). Beclin 1'in otofajik fonksiyonu evrimsel olarak korunmuştur. 1999'da tumor supresör gen olarak tanımlanmıştır. Beclin 1'in lokusu (17q21) sıklıkla insan meme, over, prostat ve beyin kanserinde monoallelik delesyonlara maruz almış ve insanlarda haploinsuficeint tumor supresör gen olarak tanımlanmıştır. Farelerde heterozigot gen dağılımı spontan meme ve akciğer tümörlerinin, lenfoma ve hepatoselüler kanserin gelişimi ile sonuçlanmıştır. Tesadüf olarak insan meme karsinoma hücrelerinde Beclin1 gen transferinin klojenite assayler ve fare xenoraft modellerinde otofajiyi indüklediği ve tumorigenezi inhibe ettiği bulunmuştur. Bu bulgular Beclin 1'in tumor supresif fonksiyonunun otofajinin pozitif regülasyonu ile ilişkili olduğunu önermektedir. Beclin 1 otofajinin erken evrelerinin başlaması için gerekli olan Vps34 kompleksinin aktivasyonu ve bir araya gelmesi için bir platform olarak görev alır. (şekil 4) (21).

Beclin-1 (Atg6) otofajinin başlangıç basamaklarındaki çift membranlı otofagozom oluşumu için gereklidir (22). Beclin-1'in otofajik indüksiyonu tumorigenezi inhibe eder. Beclin 1'in allelik kaybı sıklıkla meme, over ve prostat kanserlerinde görülür. Beclin1 sıklıkla Bcl-2, Vps34, p150, UVRAG, Bif1, Atg14L ve Rubicon gibi diğer otofaji ilişkili proteinlere bağlanarak büyük protein kompleksi oluşturmak üzere otofajiyi başlatır (22).



**Şekil 4.** Otofajiyi Regüle Eden Sinyal Yolları. Pozitif regülatörler yeşil ile, negatif regülatörler kırmızı ile belirtilmiştir. Beclin 1-Vps34 kompleksi otofaji indüksiyonu için gereklidir. Aktivitesi Beclin1'in Bcl-2'e bağlanması ve JNK ile negatif olarak regüle edilir ve fosforilasyon yoluyla Bcl-2 inhibisyonu yapar. Otofajinin diğer negatif regülatörleri AKT ve Ras yolu ile mTOR aktivasyonuna yol açan büyüme faktör reseptörlerini içerir. Buna karşın, erk'in otofaji indüktörü olarak belli koşullar altında mTOR aktivasyonuna yol açtığı gösterilmiştir. P53'ün ikili rolü olup otofajiyi indükleyebilir ya da otofaji indüksiyonunu inhibe edebilir.

Tümörogeneizde Beclin-1'in çeşitli regülatörleri vardır (21). UVRAG, Beclin-1 bağlayan protein, kromozom 11q13'e haritalanan tumor supresör adaydır. Bu lokusun bozulması genellikle meme ve kolon kanserlerini içeren farklı insan malignitelerinin gelişimi ile ilişkilidir. UVRAG'daki mutasyonlar ya da monoallelilik delesyonlar sayısız insan malignitelerinde rapor edilmiştir. UVRAG ve Beclin-1 sarmal-sarmal domainleri aracılığıyla direkt olarak etkileşir ve bu etkileşim Vps34'ün bağlanmasını ve Beclin 1 tarafından aktivasyonu arttırdığını önermektedir. UVRAG ekspresyonunun Beclin 1 indüklü otofaji için gerekli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, UVRAG *in-vivo* hücre proliferasyonunu ve tümör oluşumunu baskılar. Bif-1 (Endofilin B1) başka bir Beclin1-bağlanma proteini olup tümörogenezi baskılar. Bif-1 UVRAG aracılığıyla Beclin-1 ile etkileşir ve Vps34

aktivasyonunu ve otofagozom oluşumunu arttırır. Bif-1 knockout fareler normalde, Beclin-1 null fareye benzemeksizin embriyonik letal, fakat tumor insidansını hızını yüksek olarak göstermiştir. Bif-1-/- fareler yaklaşık % 89.7 wild tip farelerdeki % 14.3 ile karşılaştırıldığında yaşlarının 12. ayında spontan tümörler geliştirir. Ayrıca gastrik karsinomalar, invaziv üriner mesane ve safra kesesi kanserlerinde Bif-1 ekspresyonu azalmış olduğu gözlenmiştir ve Bif-1 geninin homozigot delesyonu mantle hücreli lenfomada tanımlanmıştır. Hepsi göz önüne alındığında bu bulgular Beclin-1'in iki pozitif regülatörünün potansiyel tumor supresör gen fonksiyonu olan UVRAG ve Bif-1 olduğunu önermektedir (21).

### **Bcl-2**

Bcl-2 ailesi en az bir Bcl-2 homolog bölge içeren proteinler içerir. Memelilerde, Bcl-2 ailesi anti-apoptotik üyeler (Bcl-2 ve Bcl-XL gibi), proapoptotik üyeler (Bax ve Bak) ve proapoptotik BH3 üyelerine ayrılır (21). Bcl-2 immunoglobulin minigene fuzyon taşıyan transgenik fareler t(14;18) kromozomal translokasyon tekrarlarının foliküler hiperplazi ve lenfoma geliştirdiği saptanmıştır. İlginç olarak Bcl-2'nin onkojenik özelliklerinden sorumlu olan önceden karakterize edilmiş diğer onkogenlere benzemeksizin, proliferasyonu arttırmadan çok hücre ölümünü azaltır.

Bcl-2'nin otofaji üzerindeki inhibitör etkisi antikanser ilaç dizaynı için yeni yaklaşımlar önermektedir. Bcl-2'nin Beclin 1'e bağlanarak hedeflenmesi monomerik aktif olarak otofajiyi arttıran UVRAG bağlı formu stabilize eder. Bu BH3-mimetikler tarafından Bcl2'den Beclin 1'in BH3-domaini yerine yarışmalı olarak yerleşen stratejilerle ya da JNK aktivasyonunu arttırması yoluyla başarılabilir. Alternatif olarak, Beclin-1'in yüzey dimerizasyonunu bozan ya da Vps34 bağlanması ve otofaji aktivasyonunu destekleyebilen monomerik formunu stabilize eden ajanlar ile ulaşılabilir (21).

### **mTOR ve Sinyalizasyon Yolları Aktivitesini Regüler eder**

Otofajinin major regülatörlerinden bir tanesi besin ve enerji belirgin olduğunda asıl inhibitör sinyalleri otofajiye gönderen rapamisin hedefi (TOR)'dur (21). TOR, korunmuş serin treonin kinaz olup büyüme faktörleri, besinler, enerji mevcudiyeti ve TOR'un aktivasyonu protein sentezi, hücre çoğalması ve otofaji inhibisyonu ile ilişkilidir. Mayalaradan memelilere kadar TOR, TORC1 ve TORC2 olmak üzere iki farklı kompleksten oluşur. Yalnızca TORC1 rapamisin inhibisyonuna duyarlıdır (21).



TOR'un otofaji regülasyonundaki inhibitör rolü mayalardan insanlara kadar korunmuştur. Mayalarda, TOR aktivasyonunu bloke eden besin deprivasyonu ya da rapamisin uygulaması gibi koşullar altında defosforile Atg13 Atg1'e bağlanır ve otofaji indüklenir. Sınıf I PI3K sinyalizasyonu mTOR'u aktive eder ve bundan dolayı otofajiyi inhibe eder. Sınıf I PI3K ve downstream hedeflerinde AKT, ERK ve RSK1 de olduğu gibi, hepsi mTOR'u aktive eder ve tüm onkogenler aberan kontrolsüz hücre büyümesi ile ilişkilidir. Diğer yandan PTEN, protein ve fosfolipid fosfataz PI3K sinyalini negatif olarak regüle eder ve sayısız malignitelerde delesyonlar ve mutasyonlara maruziyet ile tümör supresör olarak bilinir. Sayısız sinyal molekülleri tumor gelişiminde mTOR aktivasyonunu kontrol eder. Bu moleküllerin her birinin birden çok hücrenel hedeflere sahip olmakla birlikte mTOR regülasyonu yoluyla otofajinin modülasyonunun makul olması kendilerinin onkojenik ya da tümör supresif özelliklerine katkıda bulunur (21).

### **P53**

Hücrelerin genotoksik strese maruziyetine bağlı olarak otofajide p53'ün pozitif regülatör rolü tanımlanmıştır. DNA hasarlayıcı ajan etoposid uygulama sonrası p53'ün aktivasyonu, mTOR inhibisyonuna neden olur ve otofaji indüksiyonu ile sonuçlanır (21). mTOR inhibisyonu p53 tarafından AMPK aktivasyonuna bağımlıdır ve TSC1 ile TSC2 aracılığı ile meydana gelmesinden dolayı p53'ün yeteneğini ortadan kaldıran delesyon mTOR'u inhibe eder. DNA hasarı dışında, onkojenik stres p19ARF'nin overekspresyonu ile yineleyen onkojenik stres olarak ayrıca p53-bağımlı otofaji için hedefdir. İlginç olarak, p53-bağımlı otofaji yalnızca mTOR inhibisyonu aracılığıyla olmayıp aynı zamanda p53'ün transkripsiyonel aktivitesi yoluyla da gerçekleşir. Genotoksik stres altında, p53 DRAM'ın (damage-regulated modulator of autophagy) transkripsiyonunu upregüle ettiği gösterilmiştir. DRAM 238 AA lik protein olup, ökaryotlarda oldukça korunmuştur ve lizozomal membrana lokalizedir. DNA-hasarına maruziyet ve DRAM sonrası DRAM ekspresyonunun knockdownı survivalı artırması p53-indüklü otofaji ve hücre ölümü için gerekli olduğunu göstermiştir. Atg5 ekspresyonunu knockdownı bu etkiyi inhibe etmesi DRAM-aracılığıyla p53-indüklü hücre ölümü otofajik makineyi içerdiğini göstermektedir. İlginç olarak, DRAM'in squamos hücreli kanserde downregüle olması DRAM'in tümör supresör gen olarak rolü olduğunu önermektedir. Yukarıdakilere zıt olarak, p53 fonksiyon kaybı (farmakolojik inhibisyon ya da delesyon) hatta otofaji başlangıcını tetikleyebilir. Yalnızca p53 ekspresyon eksikliği bazal otofajinin yüksek seviyede indüklemeye yeterlidir. Bazal otofajinin bu artışı olmazsa, bununla birlikte, besin

açlığı, rapamisin ya da ER-stres gibi otofajinin farklı uyaranları ile ayrıca arttırılabilir. İlginç olarak, p53'ün sitoplazmik lokalizasyonu otofaji yoluyla inhibitör fonksiyonuna aracılık eder. p53-/- ile mutant hücrelerde p53 ekspresyonunun restorasyonu sitoplazmaya sınırlı olup p53'ün kaybı yoluyla otofajik yanıtın başlaması efektif olarak inhibe edilir. Zıt olarak, p53'ün nükleer mutantları otofajiyi bloke etmede başarısızdır. Bundan dolayı, p53'ün regülasyonu p53'ün lokalizasyon düzeyinde sitoplazmik lokalizasyonu bazal otofajinin aksamasını sağlamasına karşın otofaji indüksiyonunu destekleyen nükleer lokalizasyonu ile sıkı bir şekilde düzenlenir. Belirgin bir şekilde, otofajinin çeşitli indükleyicileri (açlık, rapamisin ya da ER stresi) p53'ün MDM2-bağımlı yıkılımını indüklemek için gösterilmiştir. Bundan dolayı p53 yalnızca otofajiyi regüle etmez ayrıca protein stabilite düzeyinde ayrıca düzenlenir. Oldukça iyi bilinen bir nosyon olan p53'ün inaktivasyonu kanser hücre survivalı için avantajdır. P53'ün otofaji düzenlenemesindeki dual rolü nasıl açıklanabilir? Önerilerden biri belli hücrel çevre ve hücrenin karşılaştığı spesifik stres ya da tümör oluşumundaki kesin mekanizmanın sonucu belirleyecektir. Tümörögenезin erken evrelerinde, genotoksik hasarların p53 yoluyla otofajiyi aktive etmesi p53'ün gate-keeping fonksiyonunun bir parçası olabilir. Böyle senaryolarda otofaji defektif hücrelerin eliminasyonunu amaçlayan hücre ölüm mekanizması olarak rol oynayabilir. Bununla birlikte, tümör bir kez oluştuğunda, p53'ün delesyon ya da mutasyonu, ya da tümör kitlesi içindeki besin eksikliğini takiben p53'ün degradasyonu, enerji sağlayıcı mekanizma olarak aktive olabilir. Bu anlamda otofaji tümör hücrelerine sürekli enerji sağlayarak survival avantajı sağlayabilir. Gerçekten, p53 null hücrelerin besin olmasa bile ATP düzeylerini düzenlediği gösterilmiştir. Ayrıca bu koşullar altında hücre canlılığı için otofajik sistemin gerektiğini göstermektedir (21).

Şu anda otofaji tumor supresyonundan kaçışta rolü de olan klorokin kullanıldığında p53 indüklü otofaji blokasyonu elde edildiğinde, MYC'in onkojenik potansiyelinin oldukça sınırlandığı gösterilmiştir (23). Otofaji inhibisyonu yoluyla hücre ölümü belirgin bir şekilde p53 bağımlı, kanserde sıklıkla mutasyona uğramış olan Bax (Bcl2-associated X), Bak proteini, kaspaz aktivasyonu ya da ATM ya/ ya da ATR sinyalizasyonu yolları ile bağımlı olmayıp kanser tedavisini arttırmak için ilginç bir hedefdir (23).

### **Otofaji Tümörögenезi nasıl baskılar?**

Hangi otofaji defektlerinin akselere tümörögenезe yol açma mekanizmaları belirgin olmamakla birlikte, özellikle otofajinin iyi bilinen metabolik stres altında hem normal hem de tümör hücrelerinde prosurvival fonksiyonu vardır (24). Survival yolu nasıl olup da şaşırtıcı bir

paradoks olarak tümörogenezi arttırmaktadır? Son çalışmalar hem non-hücresele ottonomi ve hücresele ottonom mekanizmanın bu işte yeraldığını göstermekte ve otofajinin tümör supresyonundaki rolüne bir bakış sağlamaktadır (24).

#### **Hücresele Olmayan Ottonom Mekanizma:**

Otofaji metabolik stresin fonksiyonel tamponu olarak rol alırken, hem apoptoz hem de otofajinin birlikte bozulması invitro ve tümördeki *in-vivo* nekrotik hücre ölümünü arttırır (24). Bundan dolayı, otofaji defektleri besin ve oksijen limitasyonuna bağılı olarak apoptoz defektif tümör hücrelerinin survivalını bozar. Sırasıyla enflamatuar hücre takviyesi, sitokin üretimi ve hızlandırılmış tümör büyümesi ile ilişkili olan nükleer faktör kB (NFkB) aktivasyonu ile ilişkilidir. Böylece otofaji, metabolik stresi yatıştırarak ve apoptoz konserinde nekrozis ile tümör hücre ölümünü engeleyerek tumor supresyonunda fonksiyonu olabilir. Bununla beraber, nekrotik tümörler arasındaki spesifik etkileşimler, mikroçevreleri ve immun sistem bu koşullar altındaki tümörogeneze bozulmuş olan spesifik moleküler yolaklarda olduğu gibi henüz aydınlatılmamıştır (24).

#### **Hücresele Ottonom Mekanizma**

Otofajinin tümör supresyonundaki alternatif ve muhtemel komplementer mekanizması hücresele fitnes ve genom integrasyonunu korumadaki eşsiz rolüdür (24). Otofaji defektleri 1) nöron ve karaciğerdeki ubikitin-pozitif protein agregatları, 2) deforme ve disfonksiyonele benzer hücresele oragnelleri örn: Mitokondri ve peroksizomlar, 3) DNA hasarı ve inaktive hücre siklus chekpointlerdeki genomik instabilite gibi otofaji defektlerinin birikimi ile ilişkilidir. Genom hasarını kısıtlayan otofajinin tam mekanizması henüz tam olarak belirlenememiştir. Enerji dengesinin düzenlenmesi ve /ve ya çoğunlukla defektif organeller ve otofaji defektif hücrelerdeki katlanmamış proteinlerin birikimi nedeniyle oluşan oksidatif stresin önlenmesi aktif olarak araştırılan hipotezler arasındadır (24).

#### **Kanserde Otofaji Regülasyonu**

Normal hücrelerde, besin sensörü PI3K'ın downstreamindeki rapamisin kinazın memeli hedefi (mTOR) , primer olarak otofajiyi regüle eder (24). Besin ve büyüme faktör mevcudiyetine yanıt olarak, PI3K/AKT/mTOR aksisi otofajiyi baskılamak ve hücre proliferasyonunu stimüle etmek üzere aktive olur. Zıt olarak, açlık PI3K yolunu baskılar ve otofajiyi de-represe eder, en azından geçici olarak enerji ve AA oluşumuyla hücre survivalını sürdürmek için alternatif yolu ele geçirir. Tümörlerde otofaji regülasyonu, yalnızca daha komplike tarzda, anormal PI3K aktivasyonu ve PI3K/AKT/mTOR yolu arasındaki

etkileşimlerin birçoğunda olduğu gibi ve diğer tümör hücrelerinin regülasyonu da sıklıkla bozulan diğer hücre sinyal kaskadları gibi sıklıkla gözlenen benzer prensiplerle idare edilir (24).

### **Kanserde Terapötik Hedef Olarak Otofaji**

Kanserde Otofajinin rolü ve regülasyonu oldukça kompleks olup, ancak kanser prevensiyonu ve tedavisinde potansiyel olarak oldukça önemli otofajiyi ilgi çekici hale getirmektedir (24). Tümörlerde otofaji hipoksi bölgelerinde aktive olur ve tümör hücre survivalını metabolik stres koşulları altında sürdürür. Bundan dolayı, otofaji indüksiyonu çoğunlukla muhtemel tümör hücreleri üzerine tedavi ve endojen metabolik stresin yıkıcı etkilerine karşı aktive olan survival mekanizmasının aktivasyonu ile antikanser ajanlara yanıt olarak görülür. Diğer yandan, otofaji işlemi tamamlanırken ilaçlarla indüklenen aşırı otofaji potansiyel olarak tümör hücre eliminasyonu ile hücre ölüm olasılığını arttırır. Kanseri önlemede, otofajinin hücre homeostazının ve genom integrasyonunun koruyucusu olarak görev alması özellikle önemli olabilir(24).

### **3.0. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

#### **3.1. Araştırmanın Tipi**

Bu çalışma yarı deneysel olarak gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı**

Haziran 2007- Aralık 2007 tarihleri D.E.Ü.T.F. Genel Cerrahi birimince opere edilen ve patolojik olarak da tanısı kanıtlanmış koloektal kanserli olgular alınmıştır. 2008-2010 yılları arasında DEU Onkoloji Enstitüsü Temel Onkoloji Anabilim Dalı Laboratuvarları'nda laboratuvar çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

#### **3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi**

Araştırmanın evrenini D.E.Ü.T.F. Genel Cerrahi birimince Haziran 2007- Aralık 2007 tarihleri arasında opere edilen ve patolojik olarak da tanısı kanıtlanmış 36 Kolorektal kanserli olgular oluşturmuştur. Hasta doku örneklerinin alınması için herhangi bir seçim kriteri kullanılmamıştır.

#### **3.4. Araştırmanın Materyali**

Bu çalışma DEU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı'nda kolorektal kanserli hastaların ameliyat materyallerinden toplanan tümör ve doku örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Doku örnekleri Haziran 2007- Aralık 2007 tarihleri D.E.Ü.T.F. Genel Cerrahi bölümünden elde edilmiştir.

#### **3.5. Araştırmanın Değişkenleri**

Bu çalışmada bağımsız değişkenler hastaların cinsiyet, yaş, patolojik evreleri, TNM sınıflandırmaları, tümörün lokalizasyonu, operasyon tipi, uzak metastaz olup olmadığı, tümörün histolojik tipi, diferansiasyonu, tümör boyutu, damara invazyon, lenfatiklere invazyon olup olmadığı ve sayısı, patolojik evre, adjuvan tedavi alıp almadıkları, nüks gelişimi ve belcin-1 ekspresyonu gibi klinik ve laboratuvar özelliklerinden oluşmuştur. Bağımsız değişken ise kolorektal kanser olmasıdır.

#### **3.6. Veri Toplama Araçları**

##### **3.6.1. ARAÇ VE GEREÇLER**

###### **3.6.1.1. Gereçler**

**Tablo 1 . Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar**

<b><u>CİHAZ ADI</u></b>	<b><u>CİHAZ TİPİ</u></b>	<b><u>MARKASI</u></b>
<b>İnkübatör</b>		Thermo
<b>Air-Flow Kabinet</b>		Kojair
<b>Western Jel Elektroforez Ünitesi</b>		Thermo
<b>Western Jel Blotlama Cihazı</b>		Thermo
<b>Güç Kaynağı</b>		Thermo
<b>X-Ray Film Developer</b>		Kodak
<b>UVP Jel Dökümantasyon Sistemi</b>		Kodak
<b>Sonikatör</b>		
<b>ELISA plate reader</b>		Thermo
<b>Soğutmalı santrifüj</b>	2.0 RS(Biofuge stratos)	Heraeus
<b>Isıtıcı blok</b>	2007-1	Lab-Line Plaza
<b>pH Metre</b>	710 A	Orion
<b>Manyetik karıştırıcı</b>	RH basic	IKA Labortechnik
<b>Çalkalayıcı</b>		IKA Labortechnik
<b><u>CİHAZ ADI</u></b>	<b><u>CİHAZ TİPİ</u></b>	<b><u>MARKASI</u></b>
<b>Vorteks</b>	REAX top	Heidolph
<b>Hassas terazi</b>	Libror/AEG-220	Shimadzu
<b>Otomatik pipetler (10µ L, 20 µL, 50 µL,200 µL, 1000 µL)</b>		Ependorf

### **Distile Su Cihazı**

**Derin dondurucu (-80°C)**

Spatech

Heraus

**Buz makinesi**

AF-20

Scotsman

### **3.6.1.2. SARF MALZEMELERİ**

- 2, 5, 10, 25 mL'lik steril pipetler (Greiner)
- 5mL'lik enjektörler (Sterjen)
- 96 kuyucukulu, 6 kuyucuklu steril hücre kültür plakları (Greiner)
- 15 mL, 50 ml'lik steril tüpler (Greiner)
- Ependorf tüpleri, Cryo vialler (2mL'lik) (Greiner)
- Cell scraper (Greiner)
- Semi-blot PVDF membran (Amersham)
- biomax film 8\*10 inh (Kodak)
- Thick blot paper 20\*20 cm 100 sheet
- Cam malzemeler: Deney tüpleri, beherglas, balon joje, erlenmayer, ölçü balonları, ölçü silindirleri, şişeler, huniler, tartı kapları, baget, pastör pipeti, pipetler
- Pipet uçları, Lateks eldivenler, Kağıt havlu

### 3.6.1.3. KİTLER VE REAKTİFLER

Tablo 2. Çalışmada Kullanılan Hücre Hattı, Kitler ve Reaktifler

<i>MADDE ADI</i>	FİRMA
<b>SH-SY5Y hücre hattı</b>	DSMZ
<b>Penicilinle Streptomycine</b>	Gibco
<b>L-Glutamin</b>	Gibco
<b>PBS steril</b>	Gibco
<b>DMEM</b>	Gibco
<b>Fetal Bovine Serum</b>	Gibco
<b>Tripsin EDTA</b>	Gibco
<b>Amonium persulfate</b>	Applichem
<b>Non-fat drink milk</b>	Applichem
<b>Bovine serum albumin</b>	Applichem
<b>Acrylamide sol. %30</b>	Applichem
<b>Bis-acrylamide</b>	Applichem
<b>Aprotinin</b>	Applichem
<b>Leupeptin</b>	Applichem
<b>TEMED</b>	Applichem
<b>Glycine</b>	Sigma
<b>Trisma base</b>	Sigma
<b>SDS</b>	Applichem
<b>PMSF</b>	Applichem



<b>Protein marker</b>	Fermantas
<b>Beclin-1 antikoru</b>	Cell signaling
<b>Aktin antikoru</b>	Cell signaling
<b>Sekonder antikor</b>	Fermantas
<b>Paraquat</b>	Sigma
<b>Etanol</b>	Sigma
<b>İsopropil alkol</b>	Reidel-Hein
<b>NP-40</b>	Appllichem
<b>Methanol HPLC grade</b>	Sigma
<b>Hidroklorik asid (%35)</b>	Sigma
<b>İzotonik Sodyum Klorür (%0.9)</b>	Sigma
<b>ECL Plus WB Detection kit</b>	Amersham
<b>BCA portein kiti</b>	Sigma
<b>FractionPREP Cell Fractionation kit</b>	BioVision

### 3.6.2. YÖNTEMLER

Araştırma metodolojik olarak hastalardan elde edilen tümör ve eşlenik normal doku materyalinde yapılan incelemelerden oluşmuştur.

#### a. Hasta materyali ile ilgili bölüm:

Araştırmaya D.E.Ü.T.F. Genel cerrahi birimince Haziran 2007- Aralık 2007 tarihleri arasında opere edilen ve patolojik olarak da tanısı kanıtlanmış Kolorektal kanserli olgular alındı. Bu dönemde, kolon kanserli yaklaşık 36 hastanın opere edilebileceği genel cerrahi birimince öngörüldü. Toplam 36 kolon kanserli hastanın hem tümör hem de eşlenik normal doku örnekleri tümörden en az 10 cm uzak normal kolon mukoza dokusundan elde edildi. Örnekler analize dek -80°C’de saklandı.

**Patoloji anabilim dalında;** Hasta tümör dokuları histolojik tip, diferansiasyon, lenfatik invazyon ve venöz invazyon açısından değerlendirildi.

Çalışma sürecinde; rezeke edilen dokunun transportunda steril ve uygun ortam kullanılması, araştırmacıların steril eldiven kullanarak çalışması başlıca önlemler olarak alındı.

Hastalarda otofaji Western Blotting yöntemiyle beclin-1 protein ekspresyonunun değerlendirilmesiyle belirlendi.

### **Hasta özellikleri**

Hasta grubumuz D.E.Ü.T.F. Genel Cerrahi AD tarafından opere olan kolorektal kanserli hastalardan oluşmuştur. Hastaların cinsiyet, yaş, patolojik evreleri, TNM sınıflandırmaları, tümörün lokalizasyonu, operasyon tipi, uzak metastaz olup olmadığı, tümörün histolojik tipi, diferansiasyonu, tümör boyutu, damara invazyon, lenfatiklere invazyon olup olmadığı ve sayısı, patolojik evre, adjuvan tedavi alıp almadıkları, nüks gelişimi gibi klinik ve laboratuvar özellikleri belirlenmiştir.

### **Protein Eldesi ve Protein ölçümü**

Kolon kanser hastalarının tumor ve normal doku örnekleri protein lizis solusyonu kullanılarak homojenize edildi. Buz üzerinde her bir doku örneğine uygun miktarda lizis buffer eklenerek en az 15 dakika sonike edildi. Örnekler 95°C’de 15 dk su banyosunda tutuldu. Daha sonra +4°C’de 10000 g’de 5 dk santrifüj aşamasından sonra protein lizatları elde edildi. Elde edilen protein lizatları analize kadar -80°C’de saklandı.

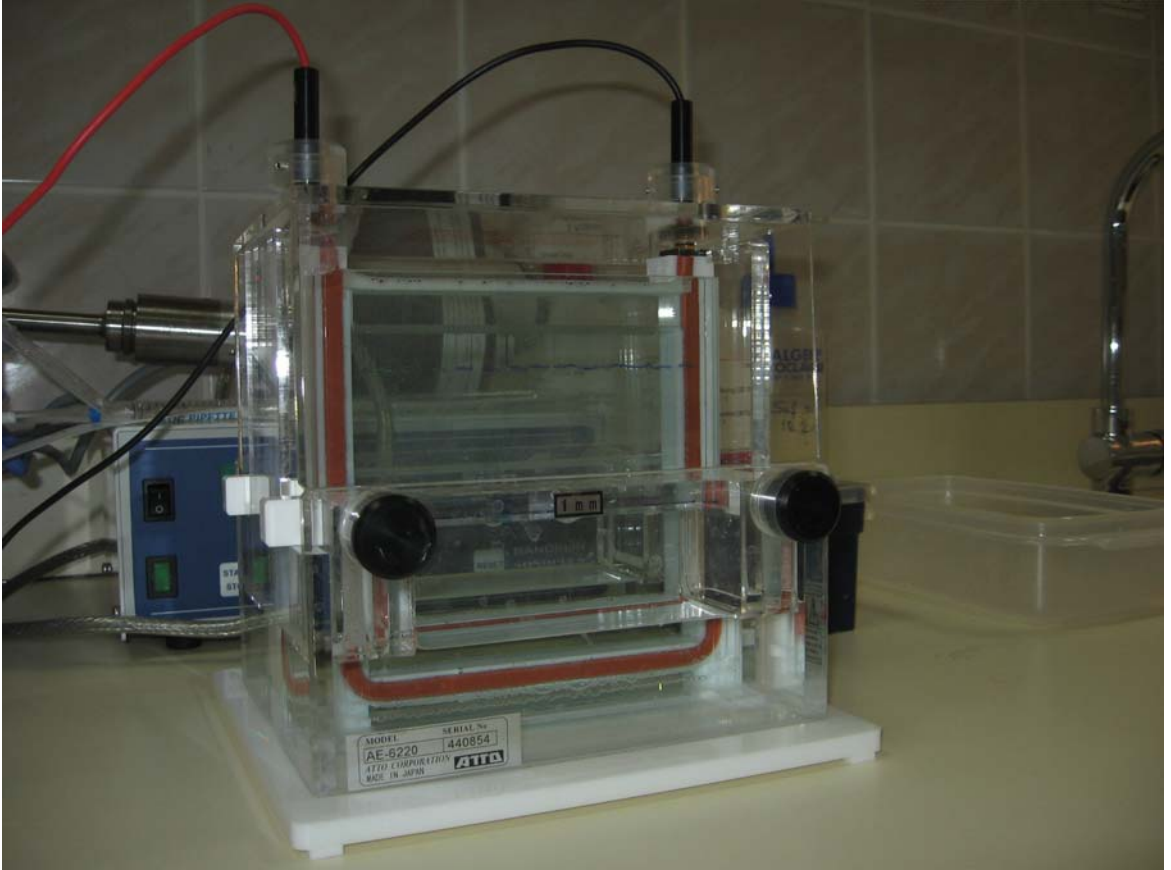
Hücre kültürlerinden enkübasyon sonunda hücre lizat eldesi FractionPREP Cell Fractionation kiti (BioVision) ile gerçekleştirildi. Daha sonra protein lizatı dokulara benzer şekilde hazırlandı.

Protein ölçümü BCA protein kiti (Sigma) kullanılarak spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. Protein ölçümünde standart grafisi kullanılarak konsantrasyonlar miligram/mL olarak belirlendi. Western blotting için yüklenecek protein miktarları 1,5X olarak hesaplandı.

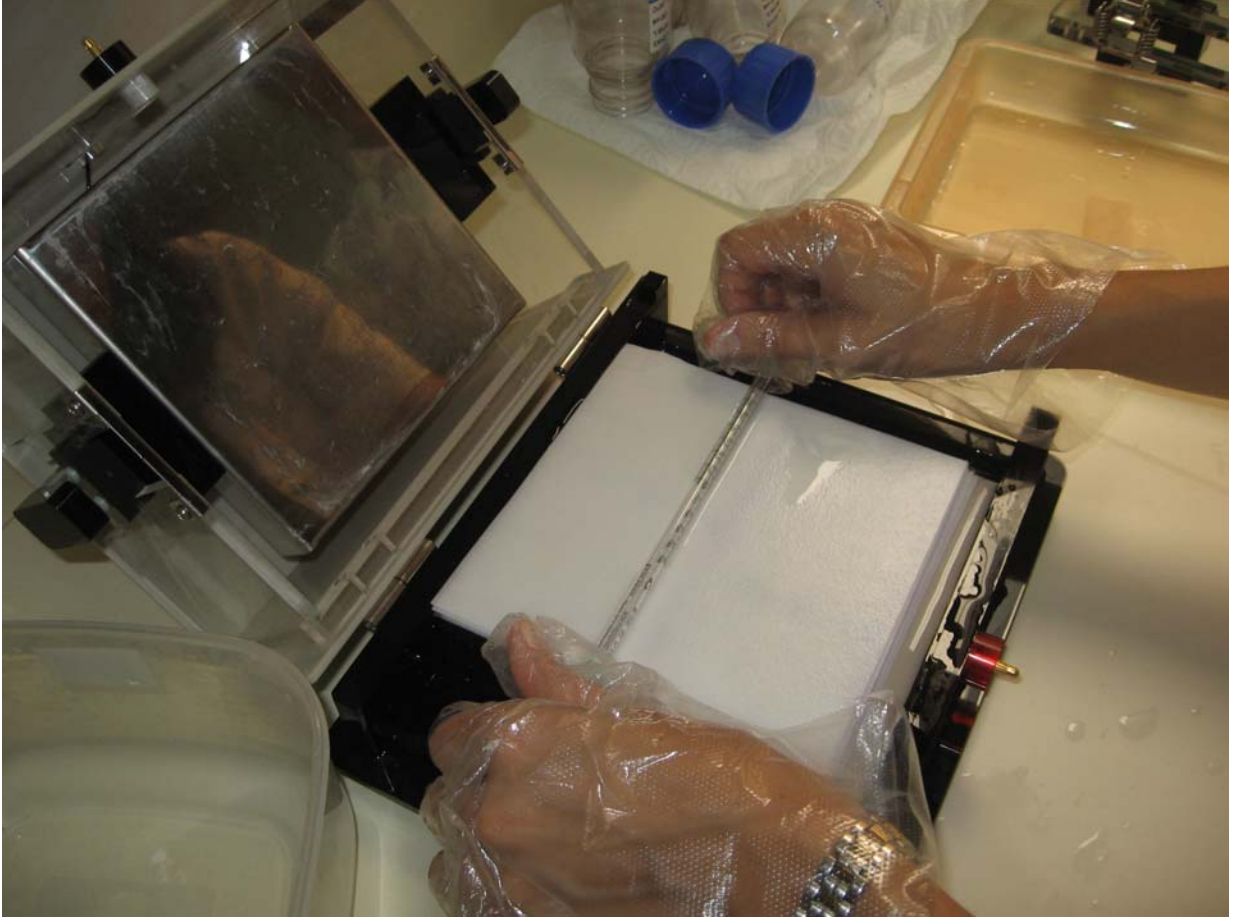
### **b. Western-blotting (WB)**

Protein miktarı BCA assay kiti ile tespit edildi. SDS-Page’de 50 µg protein %10’luk jele yüklendi. Blotlamanın ardından membranlar %3 süt tozu içeren PBS-NP40 solüsyonunda bloking yapıldı (25). Primer antikor olarak beclin-1 ve aktin kullanıldı. Primer antikorla

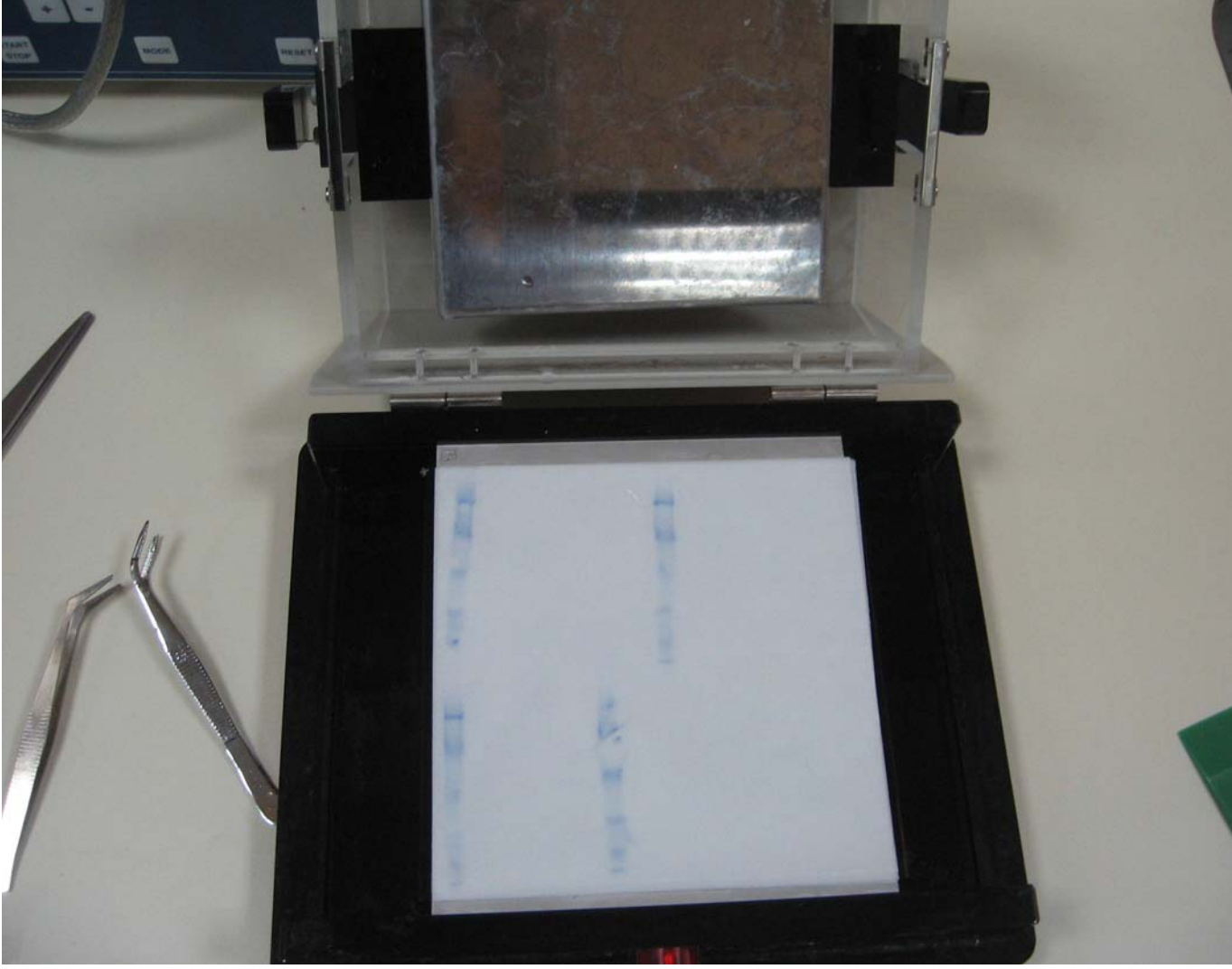
membranlar bir gece bekletildi. Sekonder antikor dilüsyonu 1:3500 ve 1 saat olarak uygulandı. Antikorların titrasyonu ve süt tozu oranı ön deneylerde optimize edildi. Yıkama basamağının ardından görüntüleme ECLplus (Amersham) kiti ve Kodak Biomax film kullanıldı. UVP jel dökümantasyon sistemi yardımıyla band yoğunluklarının analizi yapıldı.



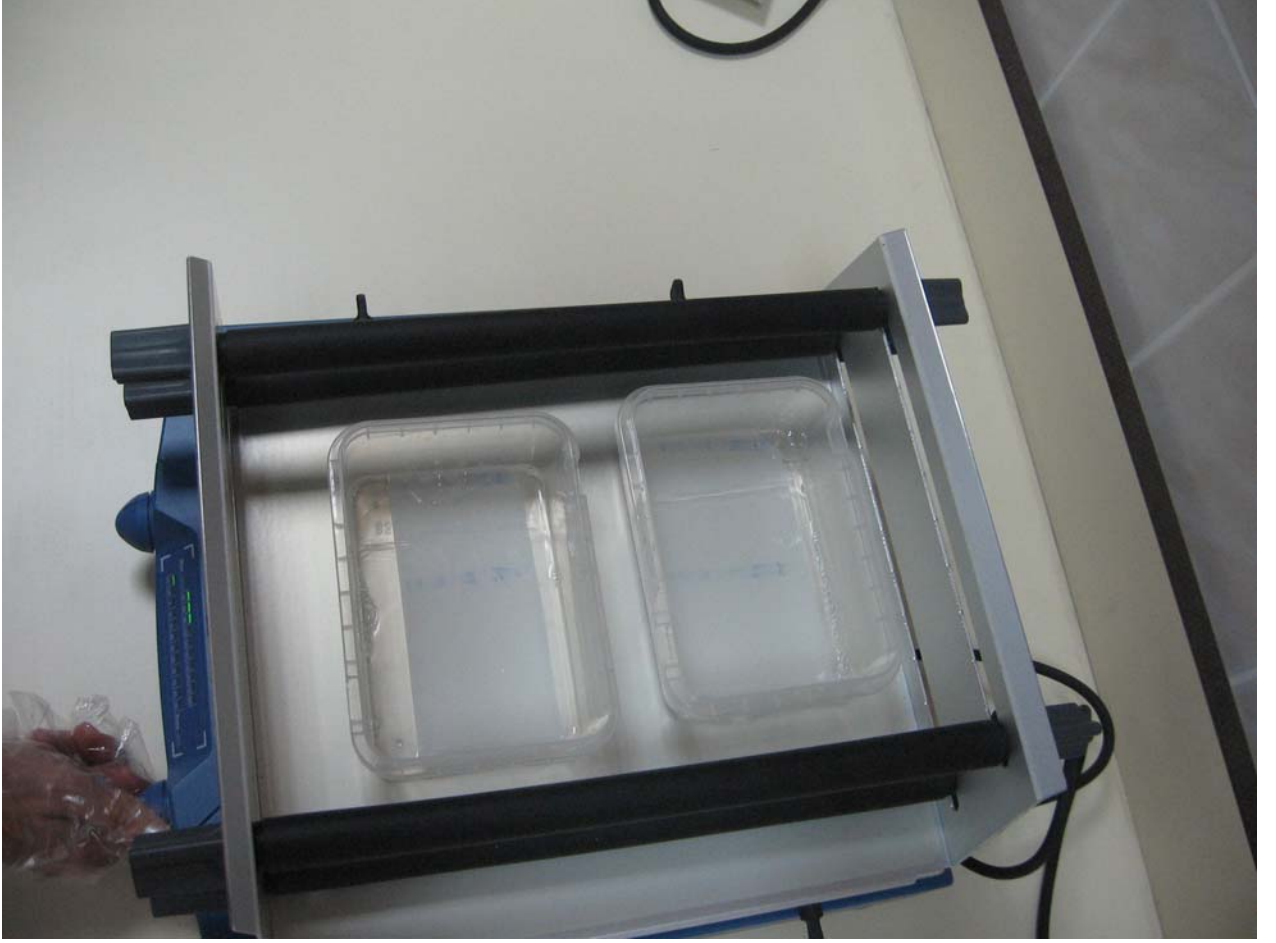
**Resim 1.** Örneklerin Elektroforetik Olarak Yürütülmesi



**Resim 2.** Örneklerin elektroforez olarak yürütülmesi sonrasında jelden proteinlerin membrana transfere hazırlanması



**Resim 3.** Transfer edilmiş örneklerin membrandaki görünümü.



**Resim 4.** Membranların blokasyonu, primer ve sekonder antikor ile inkübasyonu.

### **3.7. Araştırma Planı ve Takvimi**

DEU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD'da Hasta Doku Örneklerinin Toplanması (Haziran 2007-Aralık 2007)



DEU Tıp Fakültesi Patoloji AD'dan Dokuların İncelenmesi ve Raporlanması



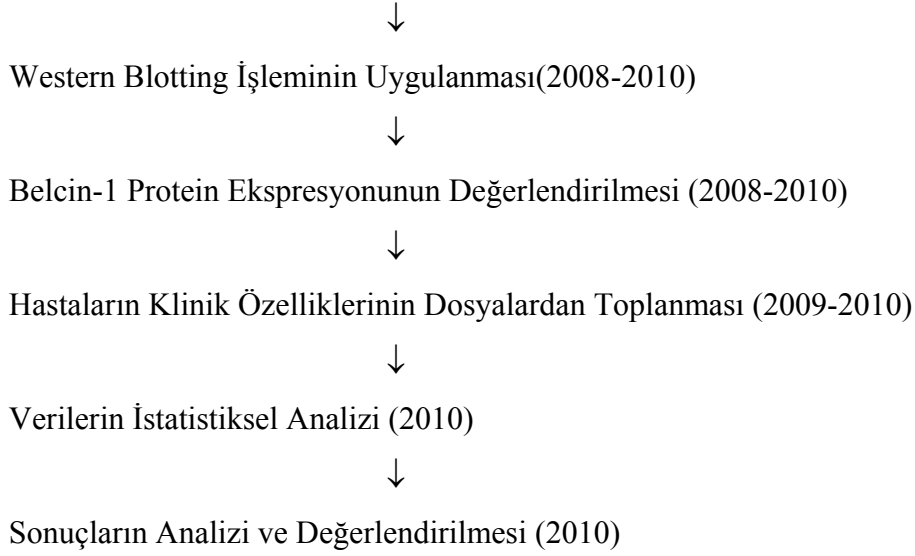
Doku Örneklerinin Depolanması



Doku Örneklerinin Homojenizasyonu (2008-2009)



Protein Ölçümü (2008-2009)



### **3.8. Verilerin Değerlendirilmesi**

#### **İstatistik Yöntemler**

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS programının 15.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Hasta veri analizinde nonparametrik Mann Whitney U ve  $x^2$  testi kullanıldı.  $p < 0.05$  ise istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

### **3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları**

Bu çalışmada kolon kanserli hastaların çoğunluğunda hem normal hem de tümörlü doku örneklerinde otofaji belirteci olan beclin-1 protein ekspresyonu saptanmıştır. Ancak beclin-1 proteini tümörde eksprese olurken, normal dokuda eksprese olmadığı ya da tam tersi durumun olduğu az sayıda da olsa belirlenmiştir. Beclin-1 ekspresyonu 4 olgu hem normal doku hem de tümör dokusunda saptanmamıştır. Bu arada otofaji ilişkili olarak beclin-1 protein ekspresyonu ile klinik özellikler arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Ancak örnek sayısının artırılarak alt gruplardan kaynaklanan örnek sayı azlığının getirdiği değerlendirme hatalarının giderildiği çalışmaların planlanması ile otofaji ve kolorektal kanser klinik özellikleri arasındaki ilişki daha iyi ortaya konabilecektir.

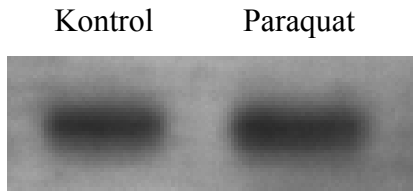
### **3.10. Etik Kurul Onayı**

Bu tezin gerçekleştirilmesi için alınan etik kurul onay tarihi 27 Mayıs 2007 ve protokol numarası 146/2007 dir.

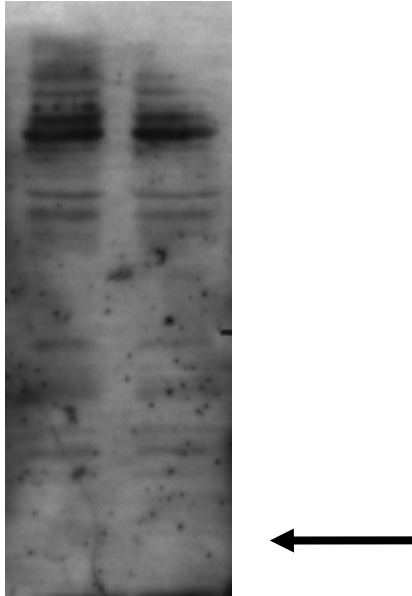
#### 4.0. BULGULAR

##### 1. Western blotting yöntemi ile beclin-1 için optimizasyonu

Optimizasyon için Rosa-Ana González-Polo ve ark. tarafından 2007'de yayınlanan bir makaleden yararlanılmıştır (26). Bu makalede SHSY-5Y hücrelerine Paraquat uygulamasının otofajiye neden olduğu belirtilmişti. Bizde ilk optimizasyon çalışmasında bu makalede otofajiye yol açan Paraquat ile pozitif kontrol elde ettik. İlk Western blotting çalışmamızda bu örnekleri kullandık. Bu çalışmada hem kontrolde hem de Paraquat ile Beclin-1 ekspresyonu saptanmıştır (Şekil 1). Böylece beclin-1 optimizasyonu tamamlanmış oldu (Şekil 6).



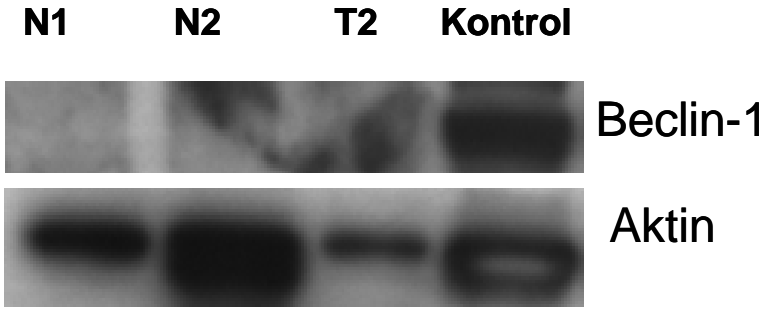
**Şekil 6.** SHSY5Y hücrelerine 24 saat Paraquat uygulaması sonrasında beclin-1 protein ekspresyonu



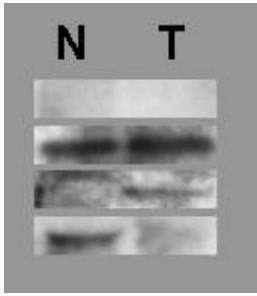
**Şekil 7.** Doku örneklerinde ilk denemeler.

Optimizasyonun tamamlanmasının ardından beclin-1 için Western-blotting çalışmaları yapılmıştır. Şekillerden de anlaşılacağı gibi bazı örneklerde kontrol ve tümör dokusunun her ikisinde de beclin 1 ekspresyonu yok iken, bazı örneklerde tümörde beclin 1 ekspresyonunda artış, bazılarında ise azalma saptanmıştır (şekil 8 ve 9).





**Şekil 8.** Kolon kanseri olgularından elde edilen iki normal doku ve bir tümör dokusu örneğinde beclin-1 protein ekspresyonu. Bu örneklerde beclin1 ekspresyonu saptanamamıştır.

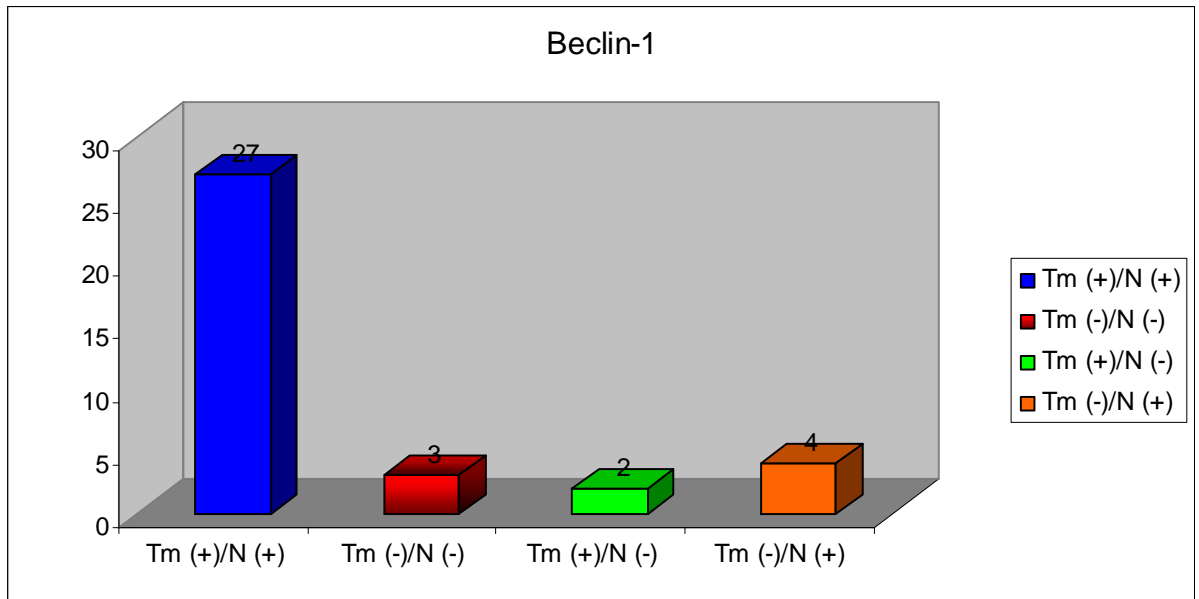


**Şekil 9.** Kolon kanseri olgularından elde edilen normal doku (N) ve tümör dokusu (T) örneğinde beclin-1 protein ekspresyonu.

### Western Blot ile Beclin-1 Protein Ekspresyon Sonuçları:

**Tablo 3.** Beclin-1 protein ekspresyon sonuçları.

Beclin-1 Protein Ekspresyonu		Hasta Sayısı
Tm (+)	N (+)	27
Tm (+)	N (-)	2
Tm (-)	N (+)	4
Tm (-)	N (-)	3
Toplam Hasta Sayısı		36



**Şekil 10 .** Kolorektal kanser doku örneklerinde Beclin-1 ekspresyonu

**Tablo 4. Hastaların Klinikopatolojik Özellikleri**

Özellikler		Hasta	
		Sayı	%
Cinsiyet	Kadın	16	44
	Erkek	20	56
Tanı	Kolon Ca	14	38
	Rektum Ca	22	62
Histolojik Tip	Adenokarsinom	33	92
	Diğerleri	3	8
Diferansiasyon	Düşük	35	97
	Yüksek	1	3
Tümörün Lokalizasyonu	Alt	4	17
	Çıkan Kolon	4	11
	Transvers Kolon	0	0
	İnen Kolon	4	11
	Sigmoid Kolon	5	14
	Rektum	9	25
	Rektosigmoid	10	0
	Diğerleri	0	0
pT	pT1	0	0
	pT2	5	14
	pT3	16	44
	pT4	13	36
Evre	1	0	0
	2	16	45
	3	8	22
	4	12	33
Nod	pN0	22	61
	pN1	4	11
	pN2	10	28
Lenfatik İnvazyon	Var	18	50

	Yok	<b>18</b>	<b>50</b>
Vasküler İnvazyon	Var	<b>32</b>	<b>89</b>
	Yok	<b>4</b>	<b>11</b>
Perinöral İnvazyon	Var	<b>8</b>	<b>22</b>
	Yok	<b>28</b>	<b>78</b>
Lenf Nodu Metastaz	Var	<b>14</b>	<b>39</b>
	Yok	<b>22</b>	<b>61</b>
Nüks	Var	<b>10</b>	<b>28</b>
	Yok	<b>26</b>	<b>72</b>
Tanı Anında Metastaz	Var	<b>8</b>	<b>22</b>
	Yok	<b>28</b>	<b>78</b>
Uzak Metastaz	Var	<b>8</b>	<b>22</b>
	Yok	<b>28</b>	<b>78</b>

**Tablo 5. Cinsiyet ve yaş ortalamasına göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Cinsiyet (n=36)</b>						
Kadın	13	81.3	3	18.8	0.150	0.699
Erkek	14	70.0	6	30.0		
<b>Yaş ortalama <math>\pm</math> SD</b>	61.0 $\pm$ 12.5		67.2 $\pm$ 8.6		0.201*	

\*Mann-Whitney U test

**Sonuç:**

Araştırma grubundaki 16 kadının 13'ünde (% 81.3), erkeklerin 14'ünde (% 70) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Cinsiyete göre beclin-1 ekspresyonu açısından fark saptanmadı (p=0.699).

Beclin-1 pozitif olan grubun yaş ortalaması 61 olup, negatif olan grubun 67 idi. Her iki grubunun yaş ortalamasının benzer olduğu saptandı.

**Tablo 6. Tümör yerleşimine göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Tümör yerleşim (n=36)</b>						
Kolon	15	88.2	2	11.8	1.820*	0.177
Rektum	12	63.2	7	36.8		

\* $\chi^2$  (yates)

**Sonuç:**

Tümör yerleşimi rektum ve rektosigmoid bölgede olan hastaların 19'unun 12'sinde (% 63.2) ve rektum dışı kolonda yerleşim gösteren hastaların 17 hastanın 15'inde (% 88.2) beclin-1 ekspresyonu saptandı (p=0.177). Tümör yerleşimine göre Beclin-1 ekspresyonunun benzer olduğu tesbit edildi.

**Rektum:** Rektum, Rektosigmoid

**Rektum Dışı:** Çekum, Çıkan kolon, Transverse kolon, inen kolon, sigmoid, Hepatik Fleksura, Splenik Fleksura

**Tablo 7. Tümör histoloji ve boyutuna göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Histoloji (n=36)</b>						
Adenokarsinom	22	71.0	9	29.0	0.697	0.404
Adenokarsinom dışı	5	100.0	0	0.0		
<b>Tümör Boyut <math>\pm</math> SD</b>	5.04 $\pm$ 2.9		4.25 $\pm$ 2.5		1.000	

\* $\chi^2$  (yates)

**Sonuç:**

Tümör histolojisine göre beclin-1 ekspresyonu adenokarsinom olanlarda 31 hastanın 22'sinde (% 71) ve adenokarsinom dışı diğer türler için 5 hastada (% 100) saptandı. Beclin-1 ekspresyonu açısından tümör histolojisine göre bir farklılık saptanmadı (p=0.404).

**Adenokarsinom:** Adenokarsinom, müsinöz adenokarsinom, adeno squomoz karsinom

**Adenokarsinom dışı:** taşlı yüzük hücreli, squomoz karsinom

**Tablo 8. Lenfatik invazyona göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Lenfatik İnvazyon (n=36)</b>						
Var	13	76.5	4	23.5	0.000	1.000
Yok	12	70.6	5	29.4		

\* $\chi^2$  (yates)

**Sonuç:**

Araştırma grubundaki lenfatik invazyon saptanan 17 hastanın 13'ünde (% 76.5), lenfatik invazyon saptanmayan 17 hastanın 12'ünde (% 70.6) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Lenfatik invazyonun olup olamamsına göre beclin-1 ekspresyonu açısından fark saptanmadı (p=1.000).



**Tablo 9. Vasküler invazyona göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Vasküler İnvazyon (n=15)</b>						
Var	12	63.2	7	36.8	1.820*	0.177
Yok	15	88.2	2	11.8		

\* $\chi^2$  (yates)

**Sonuç:**

Vasküler invazyonu olan 19 hastanın 12'sinde (%70) ve vasküler invazyonu olmayan 17 hastanın 15'inde (% 88.2) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Vasküler invazyon açısından beclin-1 ekspresyonu açısından fark saptanmadı (p=0.177).

**Tablo 10. Lenf Nod varlığına göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Patolojik Nodül (n=34)</b>						
Var (pN1,2)	10	62.5	6	37.5	0.970	0.325
Yok (PN0)	15	83.3	3	16.7		

PN0: LENF NODUNDA METASTAZ YOK

PN1: 1-3 LENF NODUNDA METASTAZ VAR

PN2: 4 VE UZERI LENF NODUNDA METASTAZ VAR

PNx: LENF NODUNDA METASTAZ Bilinmiyor

**Sonuç:**

Araştırma grubundaki patolojik olarak nodül saptanan 16 hastanın 10'ünde (% 62.5), patolojik olarak nodül saptanmayan 18 hastanın 15'inde (% 83.3) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Patolojik nodül varlığı ya da yokluğuna göre beclin-1 ekspresyonu açısından fark saptanmadı (p=0.325).

**Tablo 11. Patolojik T göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Patolojik T (n=36)</b>						
p T 0,1,2	24	80.0	6	20.0	1,067	0,309
pT 3, 4	3	50.0	3	50.0		

\* $\chi^2$  (yates)

PT1:LAMİNA PROPRIA INVAZYONU

PT2:MUSKULARIS PROPRIA INVAZYONU

PT3:MUSKULARIS PROPRIADAN SUBSEROZAYA YA DA

NONPERITONEALIZE PERIKOLIK YA DA PERIREKTAL YAG

DOKULARINA INVAZYON

PT3C:MUSKULARIS PROPRIA SINIRINDAN 5-15 MM ARASI INVAZYON

PT4A : TUMOR DİGER ORGANLARI VE YAPILARI DIREK OLARAK INVAZE EDİ YOR (MİDE SEROZASI , OMENTUM , DALAK HILUSU , SAFRAKESESİ SEROZASI )

PT4B: TUMOR VISSERAL PERITONU INVAZE EDİYOR

**Sonuç:**

Araştırma grubundaki tümörün invazyon derinliği lamina propriaya ve muskularis mukoza invazyonu olan 30 hastanın 24'ünde (% 80), muskularis propriyadan visseral peritona kadar invazyon gösteren 6 hastanın 3'ünde (% 50) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Tümörün invazyon derinliği ile beclin-1 ekspresyonu açısından bir fark saptanmadı (p=0.309).

**Tablo 12. Patolojik diferansiasyona göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Diferansiasyon (n=34)</b>						
Yüksek	3	100.0	0	0.000	0.000	1.000
Düşük	22	71.0	9	29.0		

\* $\chi^2$  (yates)

**Sonuç:**

Araştırma grubundaki 16 kadının 13'ünde (% 81.3), erkeklerin 14'ünde (% 70) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Cinsiyete göre beclin-1 ekspresyonu açısından fark saptanmadı (p=1.000).

**Tablo 13. Metastaza göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Metastaz (n=36)</b>						
Var	6	66.7	3	33.3	0.049	0.824
Yok	21	77.8	6	22.2		

\* $\chi^2$  (yates)

**Sonuç:**

Araştırma grubundaki 16 kadının 13'ünde (% 81.3), erkeklerin 14'ünde (% 70) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Cinsiyete göre beclin-1 ekspresyonu açısından fark saptanmadı (p=0.824).

**Tablo 14. Patolojik evreye göre beclin-1 ekspresyonu**

Özellik	Beclin (+)		Beclin (-)		$\chi^2$	p
	n	%	n	%		
<b>Patolojik Evre (n=16)</b>						
1,2	6	85.7	1	14.3	0.085	0.775
3,4	6	67.7	3	33.3		

**Sonuç:**

Araştırma grubundaki 16 kadının 13'ünde (% 81.3), erkeklerin 14'ünde (% 70) beclin-1 ekspresyonu saptandı. Patolojik evreye göre beclin-1 ekspresyonu açısından fark saptanmadı (p=0.775).

## 5.0. TARTIŞMA

Otofaji uzun yıllardır varlığı bilinen ancak mekanizması tam aydınlatılmamış bir hücre ölüm yoludur (27, 28). Son yıllarda yapılan çalışmalar otofajinin mekanizmasının aydınlatılmasına, burada yer alan proteinlerin belirlenmesine katkı sağlamıştır. Yapılan çalışmalar karsinogenez sürecinde otofajinin rolünü de ortaya çıkarmıştır (11-12, 29). Otofaji aslında besin yetersizliğinde hücrenin canlılığını sağlayan bir mekanizmadır. Yani otofaji kanser oluşumunun başlangıcında uygun olmayan çevresel koşullarda hücrenin hayatta kalmasını sağlamaktadır (27, 29). Tümör progresyonunda da büyüyen tümör kitlesiyle yetersiz kalan besin ve oksijene rağmen yine hücrenin yaşamını idamesine katkı yaparak tümör progresyonuna katılır. Kanser tedavisinde otofajinin yeri ise apoptoz defekti nedeni ile kemoterapiye dirençli kanserlerde, otofaji indüksiyonu ile tedavi başarısını arttırmaktır (11).

Bu güne dek kanser hücre hatlarında otofajiyile ilgili değişik çalışmalar yapılmıştır. İnsan kaynaklı embriyonik böbrek hücre hattı (HEK293), insan gliom hücre hattı (U87), insan servikal kanser hücre hattı (Hela) ve primer fare astrositomlarında yapılan bir çalışmada oksidatif stresin transforme ve kanser hücre hatlarında otofajiye yol açarken nontransforme hücre hatlarında otofajiye neden olmadığı belirlenmiştir (30).

Otofaji stimülasyonunun kanser hücrelerinin antikanser ajanlara karşı direncini bypass etmede NF-KB aktivasyonu yoluyla potansiyel olabileceği ileri sürülmüştür (31). Tümör nekrosis faktör uygulanmış Ewing sarkoma hücrelerinde NF-κB aktivasyonunun aracılık ettiği otofajiyi baskıladığı bulunmuştur (31). Kolon kanseri hücre hatlarında yapılan çalışmalarda otofaji sinyalleme yolları çalışılmıştır (10, 32-33).

Daha önce meme kanserinde yapılan çalışmalarda otofajinin varlığı ve otofajide önemli bir rolü olan ve tümör süpresör bir gen olan beclin-1 proteinin ekspresyonunda azalma olduğu bildirilmiştir (8, 34). Küçük hücreli dışı akciğer kanserinde otofaji ilişkili Beclin-1 ve mikrotubul ilişkili protein-1 hafif zincir 3 komşu normal dokuya göre düşük miktarda saptanmasıyla akciğer kanserinde tümör gelişiminde otofaji ilişki genlerin downregüle olabileceği öne sürülmüştür (35).

125 invaziv meme kanser dokusunda microarray ile beclin-1 ve bcl-2 proteinleri ve klinikopatolojik parametrelerle ilişkisi değerlendirildiğinde Beclin-1 ve bcl-2 ekspresyonu % 42.4 ve %38.4 iken bu iki protein arasında ters ilişki saptanmıştır (36). Beclin-1 ekspresyonu nükleer polimorfizm ve mitotik sayımla anlamlı korele bulunurken, bcl-2 histolojik derece,

tubul oluşumu, nükleer polimorfizm, mitoz, östrojen resptörü ve uzak metastazla ilişkisi saptanmış. Beclin-1'in bcl-2 protein etkileşimiyle meme kanser gelişimini inhibe etmede rol oynayabileceği önerilmiştir (36).

Pürifiye B grubu soyasaponinlerle yapılan bir çalışmada HCT-15 kolon adenokarsinom hücre hattında proliferasyonu inhibe ettiği ve doz bağımlı olarak makrotofajiyi indüklediği gösterilmiştir (35). Gerçekten de, son zamanlardaki bulgular defektif makrotofajinin karsinogeneze katkıda bulununabileceğini önermektedir. Ayrıca HCT-15 hücrelerine makrotofajinin spesifik inhibitörü 3-metiladenin uygulanması otofajiyi monodansikloverin akümüasyonunu bloke ederek inhibe etmiştir. Makrotofajinin upregülasyonu otofajik vakuollerin oluşumu için esansiyel olan hem LC-3 I ve aktive LC-3 II proteinlerinin zamana bağımlı artışı ile desteklenmiştir. Çeşitli morfolojik ve moleküler değişiklikler B-grubu soyasaponinlerin HCT-15 hücre hattında makrotofajiyi indüklediğini önermiştir. B-grubu soyasaponinlerin makrotofajiyi indükleme kapasitesinin önemli olmasından dolayı kanserlerde makrotofaji downregüle olmuştur. Buna karşın, bu bulgu makrotofajinin indüksiyonu olarak hem tümör progresyonunu hem de kanser hücre ölümünü arttırabildiği olarak yorumlanabilir. Besin deprivasyonu, hipoksi, hem radyasyon ve hem de kemoterapileri içeren stresli durumlarda makrotofaji esansiyel moleküllerin yeniden siklusu ve toksik ajanların sekestrasyonu yoluyla apoptotik hedeflerini azaltarak self-defans adaptasyonu sağlayabilir. Zıt olarak, makrotofaji sitoplazma ve organellerin selektif lizozomal degradasyonu yoluyla tip II programlı hücre ölümüne (PCD) katkısı olan önemli katılımcı olarak tanınabilir. Makrotofajinin uzamış periyodları sitoplazmik ve bazı durumlarda nükleer destrüksiyon sonrası sayısız otofajik vakuollerin oluşumu tarafından karakterize olan kaspaz bağımsız olaylar serisi tip II programlı hücre ölümüne neden olur. Bundan dolayı upregüle edebilen bileşiklerin tanımlanması ve bu işlemin devam etmesi oldukça önemlidir.

Bu çalışmada kolorektal kanserli hastaların dokularında otofaji ilişki beclin-1 protein ekspresyonu ve klinik bulgular arasındaki ilişki incelenmiştir. Öncelikle kolorektal kanserli ve eşlenik dokularında otofaji varlığı beclin-1 protein ekspresyonunun varlığı ile saptanmıştır. Ancak dokulardaki beclin-1 protein ekspresyonunun tümör dokusu ya da normal dokuda olması arasında belirgin bir ayırım saptanamamıştır. Beclin-1 proteini ve ilişkili olarak otofajinin hem tümörlü hem de normal dokuda olması aslında beklenebilecek özelliklerden biridir. Çünkü otofajinin normal hücrelerde özellikle açlık, büyüme faktörlerinin eksikliği gibi



metabolik durumlarda hücre canlılığını devam ettirebilmek için aktive olmaktadır. Ayrıca tümör hücrelerinde otofaji tümör supresyonuna yol açarak tümör hücre canlılığının artmasına yol açmış olabilir. Bizim çalışmamızla benzer olarak Ahn ve ark.ları (38) tümör dokusunda beclin 1 ekspresyonu saptarken normal dokuda yok ya da zayıf olarak tesbit etmişlerdir. Bu çalışmada doku mikroarray yaklaşımı kullanarak 103 kolorektal ve 60 gastrik karsinom dokusunda beclin 1 protein ekspresyonunu immunohistokimyasal olarak araştırmışlardır (38). Kolorektal karsinomaların % 95'inde ve gastrik karsinomaların % 63'ünde kanser dokusunda beclin 1 ekspresyonunu tesbit etmişlerdir. Buna karşın hem mide hem de kolonun normal mukozal hücrelerinde beclin 1 ekspresyonu yok ya da çok zayıf olarak belirlenmesi beclin 1 ekspresyonunu belirlemede kullandığımız yöntemler arası farktan, çalışma grubunu oluşturan hastaların farklı ırklardan gelmesi, çevresel etkenler, beslenme gibi farklı etkenlerden kaynaklanıyor olabilir. Yine bizim çalışmamızın klinik sonuçlarıyla uyumlu olarak, bu çalışmada da Beclin 1 protein ekspresyonu ile invazyon, metastaz ve evreyi içeren klinikopatolojik özellikler arasında önemli bir ilişki saptanmamıştır.

Bu çalışmaya karşıt olarak daha önce yapılan bir çalışmada meme kanser hücrelerinde normal meme hücreleriyle karşılaştırıldığında beclin 1 ekspresyonunda azalma tesbit edilmiştir (8). Kolorektal ve gastrik kanserlerde beclin-1 ekspresyonun kaybı yoluyla inaktivasyonuna neden olduğunu öne sürmüşlerdir.

Beclin 1 'in major fonksiyonunun hücre ölümünü uarması nedeniyle ilk olarak kanser dokusunda Beclin 1 protein ekspresyonunu azalmış olarak beklenebilir. Buna karşın Ahn ve ark.larının yaptığı çalışmada eşlenik normal mukoza hücrelerine göre malign kolorektal ve gastrik kanserler dokusunda artan beclin-1 ekspresyonu beclin-1'in yeniden ekspresyonun işaret ederek beclin 1'in hem kolorektal hem de gastrik tümörögenizde rol alabileceğini önermektedir (38). Bizim örneklerimizde beclin 1 ekspresyonunun hem tümörlü hem de eşlenik normal doku örneklerinde beraber saptanması da otofajinin kolorektal kanser tümörögenizde işe karıştığını destekler niteliktedir. Kanser hücreleri kanserlerin gelişim ve ilerlemesinde hücre ölüm sinyallerine karşı hücre ölümünden kaçma kapasitesi kazanarak kendilerini hücre ölümünden korumaktadır. Kanser hücreleri bu özelliğe sahip olmazsa sonunda ölürlür. Kolorektal ve gastrik kanserlerde beclin 1 ekspresyonu otofajik hücre ölümünün induksiyonuna katkıda bulunmakta ve böylece kanserlerin gelişimi sırasında hücre ölümünü aşan seçici bir zorlama oluşturabilir. Bu seçilmiş hücreler beclin 1 bağımlı hücre ölümüne karşı direnç mekanizmalarına sahip olabilir. Bununla birlikte çoğu gastrik ve

kolorektal karsinomada artan beclin 1 ekspresyonu büyümeyi uyarıcı faktörlerin etkisini yenmeye çalışan intakt mekanizma olabilir. Bu açıdan karsinogenezin kendisine beclin 1'in aşırı ekspresyonunun katkısının olması gerekli değildir. Ayrıca, bir çalışmada beclin 1 ekspresyonu beyin tümörlerinin agresifliği ile ilişkili bulunmuştur (39). Bu gözlemler, beclin 1 ekspresyonunun kanser tipine göre farklı roller alabileceğini önermektedir.

Çalışmamızda cinsiyet ile beclin 1 ekspresyonu arasında bir ilişki saptanamamakla birlikte, erkeklerde beclin ekspresyonu kadınlara göre 2 kat daha az olarak saptanmıştır. Yine daha ileri yaşlarda beclin 1 ekspresyonu saptanmamıştır. Rektum dışı kolonda yerleşim gösteren tümöre sahip örneklerde beclin 1 ekspresyonu rektumda yerleşenlere göre 1,3 kat daha fazla saptanırken, rektum yerleşimi gösterenlerde rektum dışı yerleşim gösterenlere göre 3 kat daha fazla olarak beclin 1 ekspresyonunun olmadığı belirlenmiştir. Histolojik olarak adenokarsinom olması beclin 1 ekspresyonunun varlığı açısından öne çıkmaktadır. Tümör boyutu ve lenfatik invazyon açısından otofaji varlığı ya da yokluğu ile ilişkili olarak bir fark belirlenmemiştir. Vasküler invazyonu ve patolojik nodülü olan örneklerde beclin 1 ekspresyonu olmayanlara göre 1,4-1,3 kat daha fazla saptanırken, vasküler invazyonu ve patolojik nodülü olanlarda olmayanlara göre 3,1-2,2 kat daha fazla olarak beclin 1 ekspresyonunun olmadığı belirlenmiştir. Hastaların kolorektal tümürlü örneklerinde beclin 1 ekspresyonu olanlarda olmayanlara göre küçük tümör boyutunda 4 kat daha fazla beclin 1 ekspresyonu görülürken, daha büyük tümör boyutu olanlarda beclin 1 ekspresyonunun varlığı ve yokluğu benzer düzeyde saptanmıştır. Metastazı olmayan hastalarda beclin1 ekspresyonu olanlara göre 6 kat daha fazla saptanmıştır. Hastaların kolorektal tümürlü örneklerinde beclin 1 ekspresyonu olanlarda olmayanlara göre erken evrede 6 kat daha fazla görülürken, ileri evrede beclin 1 ekspresyonunun varlığı durumunda yokluğuna göre 2 kat daha fazla saptanmıştır. Ancak bu bulguları örnek sayısının azlığı nedeniyle değerlendirmek mümkün olmamıştır.

Kanserde hücre ölümü ile ilgili genlerdeki ve ürünlerindeki değişiklikler üzerine gastrik ve kolorektal kanser dokularındaki otofaji ilişkili genlerin (ATG) somatik mutasyonunun araştırıldığı bir çalışmada mikrosatellit instabilitesi yüksek olan kanserlerde insan 16 ATG geni arasında ATG2B, ATG5B ve ATG9B olmak üzere üç genin mutasyonu saptanmıştır (40). Bu mutasyonların otofajik işlemin regülasyonunu bozarak kanser gelişimine katkıda bulunabileceği önerilmektedir.

Microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3, otofaji sırasında otofagozom oluşumunda işe karışmaktadır. Kolorektal kanser ve otofaji ile ilgili yapılmış az sayıda çalışmadan birinde 19 kolorektal kanser dokusununun %63'ünde LC3 immunohistokimyasal ekspresyonu yüksek olarak saptanmıştır (41). Aynı çalışmada yine özefageal kanserlerin % 53'ünde ve gastrik kanserlerin % 58'inde LC3 ekspresyonu yüksek olarak saptanmıştır. Özefageal kanserlerde LC3 ekspresyonu survival dahil olmak üzere çeşitli klinikopatolojik faktörlerle korele olmadığı saptanmıştır. LC3'ün çeşitli gastrointestinal kanserlerde upregüle olması ve Ki-67 indeksi ile kısmi ilişkili olmasının özellikle karsinogenezin erken fazında kanser gelişimine avantaj sağladığını önermektedir (41).

Kolon kanserlerinde beclin-1 ekspresyonu ve klinikopatolojik özelliklerle ilişkisi 115 evre IIIB hastada araştırılmıştır (42). Çalışmada tumor hücrelerinin % 85.2'unda beclin-1 dağılımı plazma membranı, sitoplazma ve nükleusda gözlenirken, normal komşu dokuda beclin-1 ekspresyonu yok ya da orta düzeyde belirlenmiştir. Yüksek beclin-1 ekspresyonu daha uzun survival ile güçlü bir ilişki göstermiştir. Beclin-1 ekspresyonu ve primer kitle derinliğinin (T evresi) bağımsız prognostik faktör olabileceği önerilmiştir. Yine bizim çalışmamızla benzer olarak beclin-1 ekspresyonu ile klinikopatolojik özellikler arasında bir ilişki saptanamamıştır (42) .

Hücre ölümü ve yaşamında otofajinin iki zıt rolü bulunmaktadır. Kanserde de otofaji rolleri hakkında tartışmalar devam etmektedir. Otofaji gelişimi kanser hücrelerinin tümorojenik aktivitesini baskılamakta ve Beclin1 ve UVRAG ile ilgili vakalarda olduğu gibi otofaji inaktivasyonu tümör gelişimini arttırmaktadır. Zıt olarak otofaji blokasyonu dirençli hücreleri radyoterapiye hassas hale getirmektedir. Ayrıca, otofaji ilişkili proteinler olan Beclin1 ve LC3 protein ekspresyonu kolon ve gastrik kanserlerde upregüle olmasının ATG mutasyonlarına bağlı kompensatuar aşırı ekspresyonuna işaret etmektedir. Bu veriler otofaji genlerinin hücrenin içeriğine bağlı olarak hücre ölüm ve yaşamında farklı rolleri olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca, otofajinin kanser ilerlemesi ve kanserin tedavide aşamasında farklı rollere sahip olması muhtemeldir. ATG genlerindeki mutasyonların kanserin gelişim, ilerleme ve tedaviye katkısını inceleyen daha ileri fonksiyonel çalışmaların yapılmasına ihtiyaç bulunmaktadır.

Günümüzde özellikle metastatik kolorektal kanser tedavisi alan hastalarda 5 yıllık yaşam oranları ve tedavi yanıtları belli yüzdelerin üzerine çıkamamaktadır. Kolorektal kanserin etyolojisinin, etki mekanizmalarının ve tümörün ilerlemesinde otofajinin rolünün

ortaya konması bu nedenle önem kazanmaktadır. Klinik kolorektal kanserli hastalara ait tümör örneklerinde otofajinin rolünün belirlenmeye çalışıldığı bu çalışmada otofajinin hem normal hem de kanserli dokuda devam ettiğini göstermiştir. Otofajinin hem normal hem de kanserli dokuda var olması kolorektal karsinogenezin her iki dokuda yaptığı değişikliklere bağlı olabilir.

## **6. SONUÇ ve ÖNERİLER**

Otofaji kanserde hem tümör gelişimi hem de progresyonuna katkı sağlaması yanında tümör gelişimin önleyici zıt etkileri de bulunmaktadır. Bu çalışmada kolon kanserli hastaların çoğunluğunda hem normal hem de tümörlü doku örneklerinde otofaji belirteci olan beclin-1 protein ekspresyonu saptanmıştır. Ancak beclin-1 proteini tümörde eksprese olurken, normal dokuda eksprese olmadığı ya da tam tersi durumun olduğu az sayıda da olsa belirlenmiştir. Beclin-1 ekspresyonu 4 olgu hem normal doku hem de tümör dokusunda saptanmamıştır. Bu arada otofaji ilişkili olarak beclin-1 protein ekspresyonu ile klinik özellikler arasında anlamlı bir ilişki saptanamamıştır. Ancak örnek sayısının artırılarak alt gruplardan kaynaklanan örnek sayı azlığının getirdiği değerlendirme hatalarının giderildiği çalışmaların planlanması ile otofaji ve kolorektal kanser klinik özellikleri arasındaki ilişki daha iyi ortaya konabilecektir. Kolorektal kanser ve otofaji arasındaki özelliklerin belirlenmesi ile özellikle dünyada üçüncü sırada yer alan kolorektal kanserde tümör gelişimi, prognoz, metastaz ve tedaviyi içine alan yeni belirteçlerin ve tedavi seçeneklerinin ortaya konması mümkün olabilecektir.

## **7. Kaynaklar**

- 1.** Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer Statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010;60: 277-300.
- 2.** Deretic V. Autophagy as an immune defense mechanism. *Curr Opin Immunol* 2006;18: 375-82.
- 3.** Kroemer G, Jaattela M. Lysosomes and autophagy in cell death control. *Nat Rev Cancer*. 2005;5: 886-97.
- 4.** Easton JB, Houghton PJ. mTOR and cancer therapy. *Oncogene* 2006;25: 6436–46.
- 5.** Guertin DA, Sabatini DM. An expanding role for mTOR in cancer. *Trends Mol Med* 2005;11: 353–61.
- 6.** Sarbassov DD, Ali SM, Sabatini DM. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17: 596-603.
- 7.** Paglin S, Yahalom J. Pathways that regulate autophagy and their role in mediating tumor response to treatment. *Autophagy* 2006;2: 291-3.
- 8.** Liang XH, Jackson S, Seaman M, Brown K, et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by beclin 1. *Nature* 1999;402: 672-6.
- 9.** Mizushima N. Methods for monitoring autophagy. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36: 2491-502.
- 10.** Pattingre S, Bauvy C, Codogno P. Amino acids interfere with the ERK1/2-dependent control of macroautophagy by controlling the activation of Raf-1 in human colon cancer HT-29 cells. *J Biol Chem* 2003;278: 16667-74.
- 11.** Kim R, Emi M, Tanabe K, Uchida Y, Arihiro K. The role of apoptotic or nonapoptotic cell death in determining cellular response to anticancer treatment. *Eur J Surg Oncol* 2006;32: 269–77.
- 12.** Ricci MS, Zong WX. Chemotherapeutic approaches for targeting cell death pathways. *Oncologist* 2006;11: 342-57.
- 13.** Li FY, Lai MD. Colorectal cancer, one entity or three. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2009;10: 219-29.
- 14.** Miller BA, Chu KC, Hankey BF, Ries LA. Cancer incidence and mortality patterns among specific Asian and Pacific Islander populations in the U.S. *Cancer Causes Control* 2008;19: 227-56.

15. Pohl A, Lurje G, Manegold PC, Lenz HJ. Pharmacogenomics and -genetics in colorectal cancer. *Adv Drug Deliv Rev* 2009;61: 375-80.
16. Ravikumar B, Futter M, Jahreiss L, Korolchuk VI, Lichtenberg M, Luo S, Massey DC, Menzies FM, Narayanan U, Renna M, Jimenez-Sanchez M, Sarkar S, Underwood B, Winslow A, Rubinsztein DC. Mammalian macroautophagy at a glance. *J Cell Sci* 2009;122: 1707-11.
17. Botti J, Djavaheri-Mergny M, Pilatte Y, Codogno P. Autophagy signaling and the cogwheels of cancer. *Autophagy* 2006;2: 67-73.
18. Apell A, Hanswalter Z, Markus W. Autophagy—A double-edged sword in oncology. *Int J Cancer* 2009;125: 991–995.
19. de Bruin EC, Medema JP. Apoptosis and non-apoptotic deaths in cancer development and treatment response. *Cancer Treat Rev* 2008;34: 737-49.
20. Carew JS, Nawrocki ST, Cleveland JL. Modulating autophagy for therapeutic benefit. *Autophagy* 2007;3: 464-7.
21. Eisenberg-Lerner A, Kimchi A. The paradox of autophagy and its implication in cancer etiology and therapy. *Apoptosis* 2009;14: 376-91.
22. Chen SY, Maa MC, Chiu LY, Wang JS, et al. WITHDRAWN: zVAD-induced autophagic cell death requires c-Src-dependent ERK and JNK activation and reactive oxygen species generation. *Autophagy* 2010;6: 1.
23. Dansen TB, Burgering BM. Unravelling the tumor-suppressive functions of FOXO proteins. *Trends Cell Biol* 2008;18: 421-9.
24. Chen N, Karantza-Wadsworth V. Role and regulation of autophagy in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009;1793: 1516-23.
25. Wang ZH, Xu L, Duan ZL, Zeng LQ, et al. Beclin 1-mediated macroautophagy involves regulation of caspase-9 expression in cervical cancer HeLa cells. *Gynecol Oncol* 2007;107: 107-13.
26. González-Polo RA, Niso-Santano M, Ortíz-Ortíz MA, Gómez-Martín A, et al. Inhibition of paraquat-induced autophagy accelerates the apoptotic cell death in neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Toxicol Sci* 2007;97: 448-58.
27. Shintani T, Klionsky DJ. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* 2004;306: 990–5.

28. Tsujimoto Y, Shimizu S. Another way to die: autophagic programmed cell death. *Cell Death Differ* 2005;12:1528–34.
29. Jin S, White E. Role of Autophagy in Cancer. *Autophagy* 2007;3: 28–31.
30. Chen Y, Gibson SB. Is mitochondrial generation of reactive oxygen species a trigger for autophagy? *Autophagy* 2008 16;4: 246-8.
31. Djavaheri-Mergny M, Amelotti M, Mathieu J, Besançon F, et al. NF-kappaB activation represses tumor necrosis factor-alpha-induced autophagy. *J Biol Chem*. 2006;281: 30373-82.
32. Ellington AA, Berhow MA, Singletary KW. Inhibition of Akt signaling and enhanced ERK1/2 activity are involved in induction of macroautophagy by triterpenoid B-group soyasaponins in colon cancer cells. *Carcinogenesis*. 2006;27: 298–306.
33. Petiot A, Ogier-Denis E, Blommaert EF, Meijer AJ, Codogno P. Distinct classes of phosphatidylinositol 3'-kinases are involved in signalling pathways that control macroautophagy in HT-29 cells. *J Biol Chem* 2000;275: 992-8.
34. Scarlatti F, Bauvy C, Ventruti A, Sala G, Cluzeaud F, Vandewalle A, Ghidoni R, Codogno P. Ceramide-mediated macroautophagy involves inhibition of protein kinase B and up-regulation of beclin 1. *J Biol Chem*. 2004;279: 18384–91.
35. Liu Q, Wang JJ, Pan YC, Meng LF, et al. Expression of autophagy-related genes Beclin1 and MAPLC3 in non-small cell lung cancer. *Ai Zheng* 2008;27: 25-9.
36. Won KY, Kim GY, Kim YW, Song JY, Lim SJ. Clinicopathologic correlation of beclin-1 and bcl-2 expression in human breast cancer. *Hum Pathol* 2010;41:107-12.
37. Ellington AA, Berhow M, Singletary KW. Induction of macroautophagy in human colon cancer cells by soybean B-group triterpenoid saponins. *Carcinogenesis* 2005;26:159-67.
38. Ahn CH, Jeong EG, Lee JW, Kim MS, et al. Expression of beclin-1, an autophagy-related protein, in gastric and colorectal cancers. *APMIS* 2007;115: 1344-9.
39. Miracco C, Cosci E, Oliveri G, Luzi P, et al. Protein and mRNA expression of autophagy gene Beclin 1 in human brain tumours. *Int J Oncol* 2007;30: 429–36.
40. Kang MR, Kim MS, Kim SS, Ahn CH, et al. NF-kappaB signalling proteins p50/p105, p52/p100, RelA, and IKKepsilon are over-expressed in oesophageal squamous cell carcinomas. *Pathology* 2009;41: 622-5.
41. Yoshioka A, Miyata H, Doki Y, Yamasaki M, et al. LC3, an autophagosome marker, is highly expressed in gastrointestinal cancers. *Int J Oncol* 2008;33: 461-8.

42. Li BX, Li CY, Peng RQ, Wu XJ, et al. The expression of beclin 1 is associated with favorable prognosis in stage IIIB colon cancers. *Autophagy*. 2009; 5: 303-6.



## **8. EKLER**

### **8.1. Etik Kurul Raporu**

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
KLİNİK VE LABORATUVAR ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU**

Tarih ve Sayı:28.05.2007/ 185

**Etik Kurul Üyeleri**

Prof.Dr.Taner ÇAMSARI  
Prof.Dr.Tunç ALKIN  
Doç.Dr.M.Hakan ÖZDEMİR  
Doç.Dr.Ayça Arzu SAYINER  
Doç.Dr.Vesile ÖZTÜRK  
Doç.Dr.Mustafa SEÇİL  
Doç.Dr.Murat DUMAN  
Doç.Dr.Güven ASLAN  
Yard.Doç.Dr.Murat ÖRMEN  
Öğr.Gör.Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN  
Yunus KARSLI

**Etik Kurul Başkanı**

Prof.Dr. Taner ÇAMSARI

**Etik Kurul Sekreteri**  
Hatice İGÇİ

**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKAN**

Etik Kurulumuzun 24 Mayıs 2007 tarih ve 08/14/2007 no.lu toplantı Protokol numaralı Onkoloji Enstitüsü Müdürlüğü Öğretim Üyelerinde YILMAZ'ın sorumlu olduğu "Kolon kanserinde ve ilaç direnç rolü" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Katılanların oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederim.



**Prof. Dr.Taner ÇAMSARI**  
Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları  
Etik Kurul Başkanı

**Prof.Dr.Tunç ALKIN**  
Başkan Yardımcısı  
(kattılmadı)



**Doç.Dr.M.Hakan ÖZDEMİR**  
Üye (kattılmadı)

**Doç.Dr.Ayça Arzu SAYINER**  
Üye

**Doç.Dr.Vesile ÖZTÜRK**  
Üye

**Doç.Dr.Mustafa SEÇİL**  
Üye

**Doç.Dr.Murat DUMAN**  
Üye (kattılmadı)

**Doç.Dr.Güven ASLAN**  
Üye  
(kattılmadı)

**Yard.Doç.Dr.Murat ÖRMEN**  
Üye

**Öğr.Gör.Uzm.Dr.Ahmet Can BİLGİN**  
Üye (kattılmadı)

**Yunus KARSLI**  
Üye

## 8.2. Özgeçmiş ve Yayın Listesi

### ÖZGEÇMİŞ

#### 1.GENEL

<b>DÜZENLEME TARİHİ</b>	12.11.2010		
<b>T.C. KİMLİK NO</b>	59062508634		
<b>ÜNVANI ADI SOYADI</b>	Arş. Gör. Uzm. Dr. Zekiye Sultan Altun		
<b>YAZIŞMA ADRESİ</b>	Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü İnciraltı-İZMİR		
<b>DOĞUM YILI</b>	1972		
<b>TEL</b>	0 232 4125873/4125801	<b>GSM</b>	0 532 678 37 78
<b>E-POSTA</b>	zekiye.altun@deu.edu.tr	<b>FAX</b>	0 232 278 94 95

#### 2. EĞİTİM

<b>MEZUNİYET TARİHİ</b>	<b>DERECE</b>	<b>ÜNİVERSİTE-FAKÜLTE-BÖLÜM/ANABİLİM DALI</b>
<b>2004</b>	<b>Biyokimya ve Klinik Biyokimya Uzmanı</b>	<b>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Ana Bilim Dalı</b>
<b>1995</b>	<b>Tıp Doktoru</b>	<b>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi</b>

\*(Lisans, Yüksek Lisans, Doktora, Tıpta Uzmanlık)

#### 3. AKADEMİK VE MESLEKİ DENEYİM

<b>KURUM/KURULUŞ</b>	<b>ÜLKE</b>	<b>ŞEHİR</b>	<b>BÖLÜM/BİRİM</b>	<b>GÖREV</b>	<b>GÖREV DÖNEMİ</b>
<b>Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü</b>	<b>Türkiye</b>	<b>İzmir</b>	<b>Temel Onkoloji AD</b>	<b>Arş. Gör. Uzm. Dr.</b>	<b>2006-</b>
<b>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi</b>	<b>Türkiye</b>	<b>İzmir</b>	<b>Biyokimya AD/ Merkez Biyokimya</b>	<b>Arş. Gör. Uzm. Dr.</b>	<b>2004-2006</b>

			<b>Laboratuvarı</b>		
<b>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi</b>	<b>Türkiye</b>	<b>İzmir</b>	<b>Biyokimya AD</b>	<b>Arş. Gör. Dr.</b>	<b>2000-2004</b>

\* (Başlangıç Tarihi – Bitiş Tarihi)

#### 4. DİĞER AKADEMİK FALİYETLER (Hakemlik/Danışmanlık/Editörlük Deneyimi)

<b>Son bir yılda uluslararası indekslere kayıtlı makale/derleme için yaptığımız danışmanlık sayısı</b>			-
<b>Son bir yılda projeler için yaptığımız danışmanlık sayısı</b>			3
<b>Yayınlara aldığımız toplam atıf sayısı</b>			16
<b>Danışmanlığımızı yaptığımız öğrenci sayısı</b>		<b>Tamamlanan</b>	<b>Devam Eden</b>
	<b>Yüksek Lisans</b>		
	<b>Doktora</b>		
	<b>Uzmanlık</b>		
<b>Diğer Faaliyetler (Eser/görev/faaliyet/ sorumluluk/olay/üyelik vb.)</b>			

#### 5. YAYINLAR

<b>SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler</b>	<b>13</b>
<b>1-</b> Kazıkdas CM, Uguz M, Erbil G, Tugyan K, Yilmaz O, Guneli E, <b>Altun Z</b> . The anti-oxidant effect of alpha-tocopherol in the prevention of experimentally induced myringosclerosis. <b>Otology and Neurotology</b> 2006, Sep;27(6):882-6.	
<b>2-</b> Kose S, Karaman O, Islekel H, Uzuner N, Babayigit A, Olmez D, <b>Altun Z</b> , Turgut S, Tezcan D. Circulating adhesion molecules in sera of asthmatic children before and after steroid therapy. <b>Allergy Asthma Proc.</b> 2007 Mar-Apr; 28(2):199-203.	
<b>3-</b> Islekel H, Soylu A, <b>Altun Z</b> , Yis U, Turkmen M, Kavukcu S. Serum and urine cystatin-C levels in children with post-pyelonephritic renal scarring: a pilot study. <b>International Urology and Nephrology.</b> 2007 November-December ;39(4):1241-50.	

<p><b>4- Altun ZS</b>, Uysal S, Guner G, Yılmaz O, Posacı C. Effects of oral L-arginine supplementation on blood pressure and asymmetric dimethylarginine in stress induced hypertensive rats. <b>Cell Biochem Funct</b> ,2008 Sep-Oct; 26:648-653.</p>
<p><b>5- Guzeloglu M</b>, Catalyurek H, Oktay G, <b>Altun Z</b>, Silistireli E, Sariosmanoglu N, Acikel U, Hazan E. Exploring at the molecular level the effects of blood and blood-insulin cardioplegias used open-heart surgeries on myocardial prevention. <b>J Cardiovasc Surg (Torino)</b>. 2008 Dec; 49(6): 809-16.</p>
<p><b>6- Tufekci O</b>, Gunes D, Özoğul C, Kolatan E, <b>Altun Z</b>, Yılmaz O, Aktas S, Erbayraktar Z, Kırkım G, Mutafoğlu K, Soylu A, Şerbetçioğlu B, Güneri EA, Olgun N. Evaluation of the effect of acetyl-l-carnitine on experimental cisplatin nephrotoxicity. <b>Chemotherapy</b>, 2009 Dec 8;55(6):451-459.</p>
<p><b>7- Aktaş S</b>, <b>Altun Z</b>, Erbayraktar Z, Olgun N. Effect of Cytotoxic Agents and Retinoic Acid on Myc-N Protein Expression in Neuroblastoma. <b>Applied Immunohistochemistry &amp; Molecular Morphology</b>. 2010 Jan; 18 (1): 86-89.</p>
<p><b>8- Altun Z</b>, Güneş D, Aktaş S, Erbayraktar Z, Olgun N. Protective Effects of Acetyl-L-Carnitine on Cisplatin Cytotoxicity and Oxidative Stress in Neuroblastoma. <b>Neurochemical Research</b>, 2010, Mar 35 (3): 437-443.</p>
<p><b>9- Altun Z</b>, Akhisaroğlu ST, Batu J, Ates H, Giray H, Koçtürk S. Discrimination effectiveness of CK18 in death modes of colon cancer cells. <b>Turkish Journal of Biochemistry</b>, 2010; Mar 35 (1): 20-28.</p>
<p><b>10- Aktaş S</b>, <b>Altun Z</b>, Erbayraktar Z, Olgun N. Nöroblastomda Retinoik asit ve sitotoksik ajanların kombinasyonlarının hücre siklus proteinlerinden siklin D1 ve p21 ekspresyonu üzerine etkileri. <b>Türkiye Klinik Bilimler Dergisi</b>, 2010; 30 (3): 947-951.</p>
<p><b>11- Cavdar Z</b>, Oktay G, Egrilmez MY, Genc S, Genc K, <b>Altun Z</b>, Islekel H, Guner G. In vitro reoxygenation following hypoxia increases MMP-2 and TIMP-2 secretion by human umbilical vein endothelial cells. <b>Acta Biochimica Polonica</b>, 2010; 57(1): 69-73.</p>
<p><b>12- Arslan N</b>, Sayin O, <b>Altun Z</b>, Çavdar Z, Eğrilmez MY, Yener N, Genç S, Genç K, Oktay G, Islekel H, Güner G. İnsan beyin mikrovasküler endotel hücreleri için <i>in vitro</i> iskemi reperfüzyon modelinin geliştirilmesi ve hasarın değerlendirilmesi. <b>Turkish Journal of Biochemistry</b>, 2010; 35 (3): 195-202.</p>
<p><b>13. Altun Z</b>, Islekel H, Sayin O, Eğrilmez MY, Çavdar Z, Genç S, Genç K, Oktay G, Gner G. Hipoksi sonrası erken ve geç reoksijenasyon insan umbilikal ven endotel hücrelerini</p>

oksidatif stres açısından nasıl etkiler? <b>Turkish Journal of Biochemistry</b> , 2010; 35 (3): 225-229.	
<b>Diger dergilerde yayımlanan makaleler</b>	<b>4</b>
<b>1-</b> Altekin E, Akan P, <b>Altun Z</b> , Önvural B, Tuncel P., Hemoglobin A <sub>1c</sub> Ölçümünde İmmunoturbidimetrik Yöntemin Değerlendirilmesi, <b>Klinik Laboratuvar Araştırma Dergisi</b> , 2003; cilt:7, sayı:1, pp. 3-7.	
<b>2-</b> Cölbay M., Demirkan B., Çehreli R., Demir T., <b>Altun Z.</b> , Çömlekçi A., Yeşil S., İşlekel H.İleri evre kanserde tedaviye yanıt ve prognozun değerlendirilmesi, <b>The Medical Journal of Kocatepe</b> ; 6: 17-23/ Ocak 2005.	
<b>3-</b> Küme T, <b>Altun ZS.</b> , Çoker C, Tuncel P. Glukoz taşıyıcılarında genetik kusur ile karakterli bir sendrom: Fankoni Bickel sendromu, <b>Türk Klinik Biyokimya Dergisi</b> . 2005; 3 (1): 35-38.	
<b>4-</b> Gelecek N, Pınar L, Özdirenç M, Bediz C, Akan P, Kozan Ö, <b>Altun ZS</b> . Effects of brisk walking program on plasma homocystine level and lipid profile in sedentary young subjects, <b>Fizyoterapi Rehabilitasyon</b> . 2006; 17(1):42-46.	
<b>Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayımlar</b>	<b>35</b>
<b>1-</b> Altekin E, Akan P, <b>Altun Z</b> , Onvural B, Tuncel P. Evaluation of an Immunoturbidimetric Assay for Hemoglobin A <sub>1c</sub> . 15th IFCC-FECS European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. 1-5 June, 2003, Barcelona, Spain.	
<b>2-</b> Islekel H, Yis U, <b>Altun Z</b> , Soylu A, Turkmen M, Kavukcu S. Assessment of urinary and serum cystatin C in determination of renal function in children with renal scar, The 30 <sup>th</sup> FEBS Congress and 9 <sup>th</sup> IUBMB Conference, L1-018P, 2-7 july, 2005, Budapest, Hungary.	
<b>3-</b> <b>Altun ZS</b> , Uysal S, Guner G, Yılmaz O, Posacı C. Role of asymmetric dimethylarginine and vascular endothelial growth factor in etiopathogenesis of preeclampsia, The 31 <sup>th</sup> FEBS Congress, 24-29.06.2006, 2006, Istanbul, Turkey.	
<b>4-</b> Tanrıverdi Akhisaroglu S, <b>Altun ZS</b> , Açıkgöz Z, Altan O, Bayraktar H. Effects of oxidized dietary fat on antioxidant status in broilers fed with vitamin E supplemented diet, The 31 <sup>th</sup> FEBS Congress, 24-29.06.2006, Istanbul, Turkey.	
<b>5-</b> Altekin E, <b>Altun ZS</b> , Kuralay F, Islekel H. Evaluation of urinary cystatin-C in patients with monoclonal gammopathy, The 31 <sup>th</sup> FEBS Congress, 24-29.06.2006, 2006, Istanbul, Turkey.	

<p><b>6-</b> Arslan N, Egrilmez M.Yuksel, <b>Altun Z</b>, Sayın O, Genc S, Genc K, Islekel H, Guner G. In vitro activation of Nrf2- mediated oxidative stress response in human cerebral microvascular endothelial cells by resveratrol. 33rd FEBS Congress &amp; IUBMB Conference. June 28-July 3, <b>2008</b>, Athens, Greece.</p>
<p><b>7-</b> Aktaş S, <b>Altun Z</b>, Erbayraktar Z, Olgun N. The effect of cytotoxic agents and retinoic acid on n-myc protein expression in neuroblastoma. 40th Congress of the International Society of Paediatric Oncology. October 2-6, <b>2008</b>. ESTREL Convention Center Berlin, Germany.</p>
<p><b>8-</b> Aktaş S, Erbayraktar Z, <b>Altun Z</b>, Olgun N. Questioning of notch as a therapeutic target in neuroblastoma. 40th Congress of the International Society of Paediatric Oncology. October 2-6, <b>2008</b>. ESTREL Convention Center Berlin, Germany.</p>
<p><b>9-</b> Pala G, Okyay RE, Acar B, Doğan OE, <b>Altun Z</b>, Guner G. Endoglin levels in serum and peritoneal fluid from women with and without endometriosis. American Society for Reproductive Medicine 64th Annual Meeting “Bridge to the Future of Reproductive Medicine”. San Francisco, California, USA. November 8-12, <b>2008</b></p>
<p><b>10-</b> <b>Altun Z</b>, Islekel H, Egrilmez MY, Biçer N, Genç Ş, Genç K, Sayın O, Oktay G, Guner G. The Protective Role of Erythropoietin Against in-vitro Ischemia Reperfusion Injury in HUVE Cells in-vitro. “Mechanisms, Consequences and Detection of Free Radical-Mediated Oxidative Protein Modifications” FEBS Advanced Lecture Course, April 15-20, <b>2009</b> Kemer Antalya, TURKEY.</p>
<p><b>11-</b> Çavdar Z, Sayın O, Arslan N, Egrilmez MY, <b>Altun Z</b>, Yener N, Oktay G, Guner G. Resveratrol Decreases Hypoxia/Reoxygenation Induced Mmp-2 Secretion in Human Brain Microvascular Endothelial Cells. “III. International Congress of Molecular Medicine” Abstract book; 11. 5-8 May <b>2009</b> İstanbul, TURKEY.</p>
<p><b>12-</b> Akhisaroğlu ST, Batu J, <b>Altun Z</b>, Karaca B, Karabulut B, Koçtürk S. Clinical evaluation of circulating cytokeratin 18 as a biomarker in colorectal cancer therapy monitorization. “III. International Congress of Molecular Medicine” Abstract book; 11. 5-8 May <b>2009</b> İstanbul, TURKEY.</p>
<p><b>13-</b> <b>Altun Z</b>, Akhisaroğlu ST, Batu J, Ates H, Giray H, Koçtürk S. An in vitro study to evaluate the significance of CK-18 on determination of cell death modes toward chemotherapeutics in human colorectal cancer cell line. “III. International Congress of Molecular Medicine” Abstract book; 11. 5-8 May <b>2009</b> İstanbul, TURKEY.</p>

- 14-** Ozkaya AB, Akpınar B, Ates H, **Altun Z**, Koçtürk S. Apoptotic effect of (-)-Epigallocatechin-3-gallate on HCT-116 colon carcinoma cells. “III. International Congress of Molecular Medicine” Abstract book; 11. May 5-8, **2009** İstanbul, TURKEY.
- 15-** Çavdar Z, Sayın O, Arslan N, Yüksel eğrilmez M, **Altun Z**, Yener N, Genç Ş, Genç K, İşlekel H, Oktay G, Güner G. İnsan Beyin Mikrovasküler Endotel Hücrelerinde Hipoksi/Reoksijenasyon ile İndüklenen MMP-2 Sekresyonunun Resveratrol Tarafından Azaltılması. (Resveratrol Decreases Hypoxia/Reoxygenation Induced MMP-2 Secretion In Human Microvascular Endothelial Cells). Turkish Journal of Biochemistry, **2009**,34 (special issue) ; 163-164 .
- 16-** Çavdar Z, Oktay G, Yüksel eğrilmez M, Genç Ş, Genç K, **Altun Z**, İşlekel H, Güner G. İn Vitro koşullarda İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücrelerinde Hipoksiyi İzleyen Reoksijenasyon, MMP-2 ve TIMP-2 Sekresyonunun Arttırmaktadır. (In Vitro Reoxygenation Following Hypoxia Increases MMP-2 and TIMP-2 Secretion by Human Umbilical Vein Endothelial Cells). Turkish Journal of Biochemistry, **2009**, 34 (special issue) ; 70-71 .
- 17-** Sayın O, Arslan N, **Altun Z**, Güner Akdoğan G. Resveratrolün insan koroner arter endotel hücrelerinde oksidatif hücre hasarına karşı *in vitro* etkisi. (In Vitro Effect Of Resveratrol Against Oxidative Injury of Human Coronary Endothelial Cells). Turkish Journal of Biochemistry, **2009**,34 (special issue) ; 203-204.
- 18-** **Altun Z**, İşlekel H, Sayın O, Yüksel eğrilmez M, Çavdar Z, Genç Ş, Genç K, Resmi H, Oktay G, Güner G. Erken Ve Geç Hipoksi/Reoksijenasyon HUVE Hücrelerini Oksidatif Stres Açısından Nasıl Etkiler ? (How Does Early And Late Hypoxia/Reoxygenation Affect HUVE Cells By Means Of Oxidative Stress ?). Turkish Journal of Biochemistry, **2009**, 34 (special issue) ; 212-213.
- 19-** **Altun Z**, Genç Ş, Çavdar Z, Oktay G, Terzi C, Füzün M, Sarioğlu S, Yılmaz U. Beclin-1 Expression, an Autophagy-Related Protein, in Colorectal Cancer Patients. “The 5<sup>th</sup> APOCP Conference” Asian Pasific Organization for Cancer Prevention, April 3-7 **2010** İstanbul, TURKEY.
- 20-** Akpınar BR, **Altun ZS**, Ateş H, Koçtürk S. Combined effects of melatonin with epirubicin and doxorubicin in MCF-7 breast cancer cells. International Cell Death Society Meeting “Multidisciplinary Approaches in Cell Death Research From Yeast to Man”, May 28-31, **2010** ,Side, TURKEY.



<p><b>21-</b> Gunes D, Aktas S, <b>Altun Z</b>, Olgun N. Allicin increases metastasis related genes in neuroblastoma. Advances in Neuroblastoma Research, June 21-24, <b>2010</b>, Stockholm, Sweeden.</p>
<p><b>22-</b> Gunes D, Kırkım G, Kolatan E, Güneri EA, Özoğul C, Serbetcioglu B, Yılmaz O, Tufekci O, Mutafoğlu K, <b>Altun Z</b>, Aktas S, Erbayraktar Z, Olgun N. Evaluation of the effect of acetyl-l-carnitine on cisplatin ototoxicity and neurotoxicity. Advances in Neuroblastoma Research, June 21-24, <b>2010</b>, Stockholm, Sweeden.</p>
<p><b>23-</b> <b>Altun Z</b>, Gunes D, Aktas S, Olgun N. Betulinic Acide affects metastase related genes in Neuroblastoma. Advances in Neuroblastoma Research, June 21-24, <b>2010</b>, Stockholm, Sweeden.</p>
<p><b>24-</b> Aktas S, <b>Altun Z</b>, Ozogul C, Olgun N, Gunes D. Effect of retinoic acid and chemotherapeutic agents on ultrastructural localization of myc-N in neuroblastoma. Advances in Neuroblastoma Research, June 21-24, <b>2010</b>, Stockholm, Sweeden.</p>
<p><b>25-</b> Akpınar BR, <b>Altun ZS</b>, Ateş H, Koçtürk S. Combined effects of melatonin with epirubicin and doxorubicin in MCF-7 breast cancer cell lines. 35<sup>th</sup> Congress of the Federation-of-Biochemical-Societies, Jun 26- Jul 01, <b>2010</b>, Gothenburg, Sweden. FEBS Journal , <b>2010</b>; 277; (Suppl1): 118.</p>
<p><b>26-</b> Sayın O, Arslan N, <b>Altun Z</b>, Guner-Akdogan G. <i>In vitro</i> effect of resveratrol against oxidative injury of human coronary artery endothelial cell lines. 10th Congress of Croatian Society of Biochemistry and Molecular Biology HDBMB2010, September 15-18, <b>2010</b>, Opatija, Croatia. HDBMB2010 Abstract book, <b>2010</b>; 60.</p>
<p><b>27-</b> Karaçancı C, Arkan A, Küçükğüçlü S, Kuvaki Balkan B, Konakçı S, Erbayraktar Z, <b>Altun ZS</b>. Tavşan pnömoperitonyum modelinde genel anestezi ve epidural anestezinin intestinal perfüzyon üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Türk Anesteziyoloji ve Reanimasyon Derneği Dergisi. Kasım, <b>2003</b>; volüm; 31 Ek sayı sf: 180.</p>
<p><b>28-</b> Islekel H, Altun Z, . Unilateral Renal Skarlı Hastalarda Renal Fonksiyonların Değerlendirilmesinde Serum ve İdrar Cystatin C Düzeylerinin Yeri. (Assesment Of Serum and Urine Cystatine C Levels In Determination Of Renal Function With Unilateral Renal Scar). Turkish Journal of Biochemistry <b>2005</b>; 30 (1); 107-108. Antalya.</p>
<p><b>29-</b> Kavas N, Ören H, <b>Altun Z</b>, Yılmaz Ş, Tınar Ş, İrken G. Preeklampitik ve Diyabetik Anne ve Bebeklerinde Erken Süt Çocukluğu Döneminde Demir Depolarının Durumu. Turkish Journal of Hematology 16. 10. <b>2007</b> Supplement 1; 24 (4): 56.</p>

<p><b>30-</b> Arslan N, Eğrilmez MY, <b>Altun Z</b>, Sayın O, Çavdar Z, Genc S, Genc K, İşlekel H, Guner G. In vitro activation of Nrf2- mediated oxidative stress response in human cerebral microvascular endothelial cells by resveratrol (Beyin endotel hücrelerinde resveratrol ile nrf2 aracılı oksidatif stres yanıtının aktivasyonu). XX. Ulusal Biyokimya Kongresi. 29 Ekim-1 Kasım <b>2008</b>, Kapodokya.</p>	
<p><b>31-</b> Sayın O, Arslan N, <b>Altun Z</b>, Güner Akdoğan G. Resveratrolün insan koroner arter endotel hücrelerinde oksidatif hücre hasarına karşı <i>in vitro</i> etkisi. XXI. Ulusal Biyokimya Kongresi 28-31.10.<b>2009</b>, İstanbul</p>	
<p><b>32-</b> Çavdar Z, Sayın O, Arslan N, Yüksel eğrilmez M, <b>Altun Z</b>, Yener N, Genç Ş, Genç K, İşlekel G, Oktay G, Güner Akdoğan G. İnsan Beyin Mikrovasküler Endotel Hücrelerinde Hipoksi/Reoksijenasyon ile İndüklenen MMP-2 Sekresyonunun Resveratrol Tarafından Azaltılması. (Resveratrol Decreases Hypoxia/Reoxygenation Induced MMP-2 Secretion In Human Microvascular Endothelial Cells). XXI. Ulusal Biyokimya Kongresi 28-31.10.<b>2009</b>, İstanbul.</p>	
<p><b>33-</b> <b>Altun Z</b>, İşlekel H, Sayın O, Eğrilmez MY, Çavdar Z, Genç S, Genç K, Resmi H, Oktay G, Güner G. How does early and late hypoxia-reoxygenation affect HUVE cells by means of oxidative stress? / Erken ve Geç Hipoksi-Reoksijenasyon HUVE Hücrelerini Oksidatif Stres Açısından Nasıl Etkiler? XXI. Ulusal Biyokimya Kongresi 28-31.10.<b>2009</b>, İstanbul.</p>	
<p><b>34-</b> Çavdar Z, Oktay G, Yüksel eğrilmez M, Genç Ş, Genç K, <b>Altun Z</b>, İşlekel H, Güner G. İn Vitro koşullarda İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücrelerinde Hipoksiyi İzleyen Reoksijenasyon, MMP-2 ve TIMP-2 Sekresyonunun Arttırmaktadır. (In Vitro Reoxygenation Following Hypoxia Increases MMP-2 and TIMP-2 Secretion by Human Umbilical Vein Endothelial Cells). XXI. Ulusal Biyokimya Kongresi 28-31.10.<b>2009</b>, İstanbul.</p>	
<p><b>35-</b> <b>Altun Z</b>, Genç Ş, Çavdar Z, Oktay G, Terzi C, Füzün M, Sarioğlu S, Yılmaz U. Beclin-1 Expression, an Autophagy-Related Protein, in Colorectal Cancer Patients. “The 5<sup>th</sup> APOCP Conference” Asian Pasific Organization for Cancer Prevention, April 3-7 <b>2010</b> Istanbul, TURKEY.</p>	
<p><b>Diğer Yayınlar</b></p>	<p>22</p>
<p><b>1-</b> Köse S, Karaman Ö, İşlekel H, Babayiğit A, Uzuner N, <b>Altun Z</b>, Tezcan D. Bronşial astımlı çocuklarda dolaşımdaki adezyon molekül düzeyleri ve inhale steroidlerin etkileri, 3. Ulusal SolunumYolu Hastalıkları Kongresi, 07-10.04.<b>2004</b>, Kuşadası.</p>	

<p><b>2-</b> Güzeloğlu M., Çatalyürek H, <b>Altun Z</b>, Oktay G, Silistireli E, Sariosmanoğlu N, Uğurlu B, Karabay Ö, Erdal C, Hazan E, Açikel Ü. Açık Kalp Cerrahisinde Kullanılan Kan ve Kan-İnsulin Kardioplejilerinin Myokard Koruması Üzerine Olan Etkilerinin Moleküler Düzeyde Araştırılması. IX. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi 01-05. 11. <b>2006</b> Antalya.</p>
<p><b>3-</b> <b>Altun Z</b>, Akhisaroğlu ST, Batu J, Ateş H, Giray H, Koçtürk S. Kolon kanser hücre hattında folfox ve folfırı kemoterapi kombinasyonlarının sitotoksik etkilerinin belirlenmesinde sitokeratin-18'in gücü.. II. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu, 24-27.02.<b>2008</b> Uludağ. (<b>Sözlü bildiri</b>)</p>
<p><b>4-</b> Batu J, Akhisaroğlu ST, <b>Altun Z</b>, Giray H, Yılmaz U, Koçtürk S. FOLFOX tedavisi alan kolon kanserli hastaların tedaviye yanıtının izleminde serum sitokeratin 18 düzeyleri. II. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu, 24-27.02.<b>2008</b> Uludağ.</p>
<p><b>5-</b> <b>Altun Z</b>, Avcı ST, Akhisaroğlu ST, Erbayraktar Z, Yılmaz U. İnsan Kolon Kanseri Sw480 Hücre Hattında 5-flurourasil, Oksaliplatin, Irinotekan ve Raltitresed ve Çeşitli Kombinasyonlarının Kemosensitivitesilerinin Belirlenmesi. II. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu, 24-27.02.<b>2008</b> Uludağ.</p>
<p><b>6-</b> Akhisaroğlu ST, Sercan O, <b>Altun Z</b>, Erbayraktar Z, Yılmaz U. Hematopoetik kimerizmin Real-Time Quantitative PCR ile değerlendirilmesi. II. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu, 24-27.02.<b>2008</b> Uludağ.</p>
<p><b>7-</b> <b>Altun Z</b>, Kurul S, Öznur E, Yiş U, Dirik E, Çoker C. Konjenital glikozilasyon defektlerinin ayırıcı tanısında transferrin izoelektrik fokuslama elektroforez yöntemi. VIII. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi. 08-11.05.<b>2008</b>, Bodrum.</p>
<p><b>8-</b> Erbayraktar Z, T.Akhisaroğlu S, <b>Altun Z</b>, Yılmaz U. Onkolojide Biyokimya'nın ve Klinik Biyokimya'nın yeri. VIII. Ulusal Klinik Biyokimya Kongresi. 08-11.05.<b>2008</b>, Bodrum.</p>
<p><b>9-</b> <b>Altun ZS</b>, Aktaş S, Erbayraktar Z, Zadeoğulları Z, Diniz G, Erbay A, Olgun N. Nöroblastomda kemoterapötiklerle ubikitin ekspresyonu ilişkisi. XV. Ulusal Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 21-25.05.<b>2008</b>, Çeşme.</p>
<p><b>10-</b> <b>Altun ZS</b>, Aktaş S, Erbayraktar Z, Olgun N. Pediatrik onkolojide temel onkolojinin açtığı yeni ufuklar. XV. Ulusal Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 21-25.05.<b>2008</b>, Çeşme.</p>
<p><b>11-</b> Erbayraktar Z, Aktaş S, <b>Altun Z</b>, Olgun N. Nöroblastomda apoptoz ilişkili proteinler: Survivin ilaç direnci belirleyicisi mi? XV. Ulusal Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG)</p>

Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 21-25.05.2008, Çeşme.
<b>12-</b> Aktaş S, <b>Altun ZS</b> , Erbayraktar Z, Olgun N. Nöroblastomda retinoik asit ve sitotoksik ajanların kombinasyonlarının hücre siklus proteinlerinden siklinD1 ve p21 ekspresyonu üzerine etkileri. XV. Ulusal Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 21-25.05.2008, Çeşme.
<b>13-</b> <b>Altun ZS</b> , Güneş D, Aktaş S, Erbayraktar Z, Sönmez A, Olgun N. L-karnitin nöroblastomda sisplatinin hücre sitotoksitesisi üzerine etkili midir? XV. Ulusal Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 21-25.05.2008, Çeşme. <b>(Sözlü bildiri)</b>
<b>14-</b> Aktaş S, <b>Altun ZS</b> , Erbayraktar Z, Olgun N. Nöroblastomda retinoik asit ve sitotoksik ajanların kombinasyonlarının N-Myc ekspresyonu üzerine etkileri. XV. Ulusal Türk Pediatrik Onkoloji Grubu (TPOG) Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 21-25.05.2008, Çeşme.
<b>15-</b> Aktas S, Erçetin AP, <b>Altun Z</b> , Olgun N. Nöroblastomda Demetile Edici Ajan ve Kemoterapötik Ajanların NOTCH Sinyal Yolağı Ekspresyon ve Metilasyonuna Etkisi. III. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu-Teorik Metot Çalıştayı, 14-17.03.2010, Grand Yazıcı Otel-Uludağ.
<b>16-</b> Gunes D, Aktas S, <b>Altun Z</b> , Olgun N. Nöroblastomda Allicin Metastaz İlişkili Genlerin Ekspresyonunu Arttırmaktadır. XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 18-22.05.2010, Samsun.
<b>17-</b> Aktas S, <b>Altun Z</b> , <b>Olgun N</b> . Retinoik Asit ve Kemoterapötik Ajanların Nöroblastomada N-Myc Ultrastrüktüel Lokalizasyonuna Etkisi. XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 18-22.05.2010, Samsun.
<b>18-</b> Çakır, D, Gunes D, Kolatan E, Aktas S, <b>Altun Z</b> , Yılmaz O, Mutafoğlu K, Olgun N. Asetil L-Karnitin, Sisplatinine Bağlı Miyelosupresif Etkiyi Değiştirici Rolü (in-vivo sıçan modeli). XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 18-22.05.2010, Samsun.
<b>19-</b> Mutafoğlu K, Aktas S, Çakır D, Çelik A, Gunes D, <b>Altun Z</b> , Yılmaz O, Olgun N. <b>Asetil L Karnitini</b> Sisplatinine Bağlı Kornea toksisitesini Önlüyor mu? XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 18-22.05.2010, Samsun.
<b>20-</b> Aktas S, Aygün N, <b>Altun Z</b> , Olgun N. N-Myc ultrastrüktüel lokalizasyon. XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 18-22.05.2010, Samsun.
<b>21-</b> <b>Altun Z</b> , Aktas S, Gunes D, Olgun N. Betulinik Asit Nöroblastom Hücrelerinde Metastaz İlişkili Genleri Etkileri. XVI. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi. 18-

22.05.2010, Samsun. (Sözlü bildiri)

**22-** Topcu Y, **Altun Z**, Kurul S, Öznur E, Bayram E, Akıncı G, Çoker C, Dirik E. Konjenital glikozilasyon defekt şüphesi olan olguların transferrin izoelektrik fokuslama elektroforez yöntemi ile değerlendirilmesi. 12. Ulusal Pediatrik Nöroloji Kongresi. 26-29.05.2010, Konya.

\* (Toplam sayı)

### **8.3. Tezden Yapılan Yayınlar**

**1-** **Altun Z**, Genç Ş, Çavdar Z, Oktay G, Terzi C, Füzün M, Sarıoğlu S, Yılmaz U. Beclin-1 Expression, an Autophagy-Related Protein, in Colorectal Cancer Patients. “The 5<sup>th</sup> APOCP Conference” Asian Pasific Organization for Cancer Prevention, April 3-7 **2010** Istanbul, TURKEY.