

ÖZET

Günümüzde kanser, dünyanın her yerinde sıklıkla görülen, yüksek oranda ölüme, çoğu zaman da yaşam kalitesinin düşmesine neden olan, insan ömrünün uzaması ile birlikte artan vakalar sebebiyle araştırmacıların yoğun olarak ilgilendiği ciddi bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanserin tanı ve tedavisine yönelik çok çeşitli stratejiler geliştirilmiş olup hala potansiyel terapötik ajanlar üzerine çok sayıda çalışma yürütülmektedir.

Kanser vakalarında hücrelerin aşırı çoğalması durumu büyük bir sorun teşkil etmektedir. Dolayısıyla hücre döngüsü ve bölünmesinin sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesini sağlayan birtakım proteinler, önemli birer hedef olarak ortaya çıkmaktadır. Bu bağlamda sikline bağımlı kinazlar (CDK) son zamanlarda ele alınmaktadır. CDK'lerin aşırı aktivasyonu sonucunda hücreler sürekli olarak bölünme eğilimine girerler. Bu nedenle CDK inhibitörleri (CDKi) kanser tedavisinde kullanılabilir. Bu anlamda purvalanol ve roskovitin (CYC202, seliciclib) gibi, kendine özgü CDK hedeflerinin aktivasyonunu durduran ajanlar ile yapılan çalışmalar sonucunda CDKi türevlerinin hücre sağkalımına ket vuran apoptotik etkileri ortaya konmaktadır.

Otofaji, hücrenin eski organel, protein gibi sitoplazmik molekülleri yıkıma uğratarak, sonuçta yenilerinin sentezinde kullanılacak amino asit, yağ asidi gibi küçük moleküllerin üretildiği bir nevi geri dönüşüm mekanizmasıdır. Dolayısıyla böyle bir mekanizma, açlık benzeri stres koşullarında hücrede homeostasinin sağlanması için son derece önemlidir. Ancak otofajinin, apoptozun yanında bir diğer hücre ölüm mekanizması olarak da görev yapabildiği daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Kanserde, otofajinin hücre sağkalım ve ölüm kararlarında hangi yöne etki ettiği tartışma konusudur.

Atg5 proteini otofagozomların oluşmasındaki önemli rolü nedeniyle otofaji süreci için gerekli görülmektedir. Bu tez kapsamında Atg5 protein varlığının purvalanol ve roskovitin uygulanan fare embriyonik fibroblast (MEF) hücrelerindeki apoptoz ve otofaji süreçlerini ve hücre sağkalımını ne şekilde etkilediği üzerine çalışmalar yapılmıştır. Doğal tip (dt) ve Atg5 ifadesinden yoksun (Atg5^{-/-}) MEF hücrelerinde, ilaç uygulamalarını takiben, otofaji ve apoptoz ile ilişkili belirteçler ve otofaji ile yakından ilişkili olan memeli rapamisin hedefi (mTOR) sinyal yolağında yer alan bazı proteinlerin durumları incelenmiştir.

Çalışmalar sonucunda CDKi türevleri ile muamele edilen MEF hücrelerinde apoptozun gerçekleştiği belirlenmiştir. Ayrıca bu ilaçların her iki hücre hattında da Atg5 varlığından bağımsız olarak otofaji cevabının ortaya çıkmasına neden olduğu görülmüştür ki literatürde Atg5-bağımsız otofajik sinyal yollarının varlığı gösterilmiştir. Yine de, dt hücrelerin sağkalımının Atg5^{-/-} hücrelere kıyasla daha yüksek olduğu görülmüştür. Atg5 proteininin apoptozun gerçekleşmesindeki bazı rolleri de daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Hücrenin sağkalım ve ölüm karar mekanizmalarının daha iyi anlaşılabilmesi için bu bilgilerin de ele alınması, konu üzerine çalışmalara devam edilmesi gerekmektedir.

ABSTRACT

Cancer is a worldwide problem that causes many deaths, at least a serious decrease in life quality, and as the cases keep increasing due to a higher lifespan, it has been a major interest for researchers from all over the world. Many strategies have been developed for cancer diagnosis and therapy, and there are many ongoing studies regarding the potential therapeutic agents.

One of the main problems in cases of cancer is the high rate of cell division. Thus, some key proteins in the regulation of cell cycle arise as important targets for therapy. In this concept, cyclin-dependent kinases (CDKs) have been greatly studied. Constant activation of CDKs is known to be responsible for abnormal cell growth. This suggests that CDK inhibitors (CDKIs) like purvalanol and roscovitine (CYC202, seliciclib), which inhibit their specific CDK targets, would make reasonable agents to be investigated. Already, it has been shown that these agents have apoptotic effects and are important for blocking abnormal division of cancer cells.

Autophagy is a kind of recycling process in which cytoplasmic components, such as organelles and protein aggregates, are degraded to yield small molecules, like amino acids and fatty acids, which can be reused to synthesize new components. It is not surprising that a mechanism of this kind is useful for a cell to gain homeostasis under stress conditions, like starvation. However, this mechanism has also been shown to act as another death mechanism, in addition to apoptosis. Making interpretations on the role of autophagy in cancer have been somewhat difficult.

Atg5 is a protein that has an important role in autophagosome formation, for which it has been accepted as a necessary part of the system. In this study, the effects of Atg5 on the mouse embryonic fibroblast (MEF) cells treated with purvalanol and

roscovitine, regarding autophagy and apoptosis, were investigated. Upon drug treatments, the markers for autophagy and apoptosis along with proteins in mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway, which are strongly correlated to autophagy, were investigated in both wild type (wt) and Atg5 knockout (Atg5^{-/-}) MEF cells.

As a result, it has been observed that apoptosis is induced in wt and Atg5^{-/-} MEF cells both by purvalanol and roscovitine. Our findings also suggested that autophagy is induced in both wild type and Atg5 knockout MEF cells, indicating an Atg5-independent non-canonical pathway. These pathways have also been mentioned in some previous studies. Still, the experiments have demonstrated a higher survival rate for wild type MEF cells. There are also studies in which the apoptotic effects of Atg5 protein were mentioned. Thus, it is important to shed light on the many roles of Atg5 to understand the cell's decision on survival or death.