

ÖZET

Hepatosellüler karsinom (HCC) primer karaciğer kanserlerinin %82'sini oluşturmaktadır. Kansere bağlı ölümlerin üçüncü ana sebebidir. HCC'nin altında yatan ayrıntılı mekanizmanın ve patogenezinin araştırılması, yeni biyobelirteçlerin bulunup etkin öncül tedavi ve tanının keşfedilmesi, yeni terapötik ilaçların geliştirilmesi hasta ve potansiyel hastalar için önemlidir. miR-21, bir dizi kanserde yaygın olarak incelenen onkojenik miRNA'lardan biridir. Hücre proliferasyonu, göçü ve apoptoz ile ilgilidir ve kanserde invazyonu ve metastazı teşvik edebilir. Kanser tedavisinde ilgi gören Sodyum/potasyum (Na⁺/K⁺)-ATPase pompası (NKP) inhibitörlerinden Oleandrin'in anti-tümorigenik etkisi çeşitli kanser tiplerinde gösterilmiştir ve bu sebeple gelecekteki çalışmalar için umut vaat etmektedir. Bu sebeple bu tez çalışmasında, Oleandrin'in HCC hücresinde miR-21 ifadesi artırılarak elde edilen (miR-21+) daha agresif hücrelerle stabil hücre hattı oluşturulmuş ve çeşitli kanser tiplerinde anti-tümorigenik etki gösteren Oleandrin'in HCC hücrelerine etkisini gözlemleyebilmek için iki boyutlu ve üç boyutlu ortamda transkriptomik ve proteomik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. İki boyutlu ortamda Oleandrin'in HEPG2 ve miR-21+ hücreleri üzerindeki etkinliğini gözlemlemek için hücre canlılığı, proliferasyonu, koloni oluşturma potansiyeli, hücre siklusundaki etkisini gözlemleyebilmek için Annexin V/PI deneyi uygulanmıştır. Tümörün ilaca karşı verdiği cevabı taklit etme amacıyla oluşturduğumuz üç boyutlu hücre kültüründe yumuşak agar koloni oluşturma deneyi ve asılı damla deneyi gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda Oleandrin'in miR-21+ ve HEPG2 hücrelerinde hücre canlılığı ve koloni oluşturma potansiyelini azalttığı ve miR-21 ifadesini baskıladığı gösterilmiştir. Oleandrin'in hücre siklusunda G2/M fazında tutulu bıraktığı ve hücre içi sinyal yollarından PI3K/Akt/mTOR ve NF-κB'yi baskıladığı, apoptoz sinyal yolağını indüklediği incelenmiştir. Tez çalışmamızdan elde edilen sonuçlar doğrultusunda, Oleandrin'in Hepatosellüler karsinom hücre hattı HEPG2 ve miR-21 ifadesi artmış hücrelerde hücre canlılığını baskıladığı ve hücre ölümünü indüklediğini göstermiştir. Bu öncül çalışmanın sonuçları bağlı olarak Oleandrin'nin gelecekte *in vivo* çalışmalarının gerçekleştirilmesinin ardından Hepatosellüler Karsinom tedavisinde kullanılabilecek umut verici bir ajan olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Karaciğer Kanseri, miRNA-21, Oleandrin, HEPG2, Apoptoz, PI3K/Akt

SUMMARY

Hepatocellular carcinoma (HCC) accounts for 82% of primary liver cancers. It is the third main cause of cancer-related deaths. The investigation of the detailed mechanism and pathogenesis underlying HCC, the discovery of new biomarkers and the discovery of effective initial treatment and diagnosis, the development of new therapeutic drugs are important for patients and potential patients. miR-21 is one of the oncogenic miRNAs that has been widely studied in several cancers. It is related to cell proliferation, migration, and apoptosis, and may promote invasion and metastasis in cancer. The anti-tumorigenic effect of Oleandrin, one of the sodium/potassium (Na⁺/K⁺)-ATPase pump (NKP) inhibitors of interest in cancer treatment, has been shown in various cancer types and therefore shows promise for future studies. For this reason, in this thesis study, a stable cell line was created with more aggressive cells obtained by increasing the expression of mir-21 of oleandrin in the HCC cell (miR-21+), and transcriptomic and proteomic studies were performed in a two-dimensional and three-dimensional environment to observe the effect of Oleandrin on HCC cells, which has an anti-tumorigenic effect on various types of cancer. To observe the activity of oleandrin on HEPG2 and miR-21+ cells in a two-dimensional environment, the Annexin V/PI experiment was applied to observe cell viability, proliferation, colony-forming potential, and its effect on the cell cycle. A soft agar colony formation experiment and a hanging drop experiment were performed in a three-dimensional cell culture that we created to simulate the tumor's response to the drug. In our study, it was shown that Oleandrin reduces cell viability and colony-forming potential in miR-21+ and HEPG2 cells and suppresses MIR-21 expression. It has been studied that oleandrin is retained in the G2/M phase of the cell cycle and suppresses PI3K/Akt/mTOR and NF-KB intracellular signaling pathways, inducing the apoptosis signaling pathway. According to the results obtained from our thesis study, it has been shown that Oleandrin suppresses cell viability and induces cell death in cells with increased Hepatocellular carcinoma cell line HEPG2 and miR-21 expression. Depending on the results of this preliminary study, Oleandrin has shown to be a promising agent that can be used in the treatment of Hepatocellular Carcinoma following the implementation of *in vivo* studies in the future.

Key words: *Liver Cancer, miRNA-21, Oleandrin, HEPG2, apoptosis, PI3K/Akt*