

ÖZET

Günümüzde prostat kanseri, erkekler rastlanma sıklığı bakımında diğer kanser türlerine oranla daha üst sıralarda yer bulmaktadır. Prostat kanserine yakalanma oranlarına bakıldığında risk faktörleri ve kronik hastalık içerisinde obezite, dünyada son birkaç yıldır artış gösteren bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Daha önce yapılmış birçok çalışmada obez hastaların kansere yakalanma oranlarının daha fazla olduğu tespit edilmiştir ve kanser vakalarında agresiviteyi artırarak ilaç direncine sebep olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalar göstermektedir ki obezite, vücut yağ oranının artmasına neden olması yanısıra prostat kanseri gelişimi sırasında çeşitli hormonların seviyesinin yükselmesine bağlı agresivite, metastazda da rol oynamaktadır. Bunun yanısıra, obezite tedavisinde kullanılan ilaçların kanser gelişiminde lipogenez ve adipogenez yollarını baskılamasına bağlı olarak anti-tümör etki gösterdiklerini belirten çalışmalar oldukça dikkat çekmektedir. Bu nedenle obezite ve prostat kanseri ilişkisi aydınlatılması, tanı ve tedavisine yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Yapılmış çalışmalar da obezite tedavisinde de sıklıkla kullanılan Orlistat'ın apoptozu indüklediği, kanser hücreleri üzerinde tümör büyümesini baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca Orlistat, uzun zincirli yağ asitlerinin sentezinden sorumlu olan FASN inhibitörüdür ve FASN aşırı anlatımının olduğu kanser için anti-kanser etkisi gösterdiği bilinmektedir. Prostat kanseri hücre tipleri incelendiğinde prostat tümörigenezi gelişiminde yağ asid sentez yolunun tetiklenmesi, kolesterol metabolizması düzensizliği etkisi görülmektedir. Bozulan bu metabolik süreç üzerindeki hedefler FASN ve hücrel metabolizma üzerinde etkili metabolik sensör olan AMPK'dır. AMPK'ın tümör gelişimi üzerindeki baskılayıcı etkiler gösterebildiği ve prostat kanseri hücrelerinde androjen reseptör (AR) kontrolünde lipogenik yolak üzerindeki etkileri çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Bu öncü bilgilerden yola çıkarak yapılan bu çalışmada, AMPK α 'nın lipogenez ile ilişkili prostat kanseri progresyonunda, metastatik prostat kanser hücresi PC3 ve prostat epitel hücresi PNT1A hücrelerindeki rolünü belirlemek amaçlı olarak AMPK α susturulması gerçekleştirildi ve lipaz inhibitörü, AMPK aktivatörü olan Orlistat uygulanarak hücrelerin proteomik haritadaki değişimi 2D-DIGE yöntemi ile belirlenmiştir. Orlistat'ın AMPK'nın fosforillenmesi üzerinden yaptığı etki ise Asetil koenzim A karboksilaz (ACC)'in durdurulması ile alt yolakta yer alan FASN'e etki ederek inhibe

etmesi sonucu hücrenin yağ asit metabolizmasına ket vuracak yönde gerçekleşmiştir. Ayrıca hücre çoğalması ve hücre canlılığı önemli ölçüde azalmıştır. Orlistat'ın FASN inhibisyonuna bağlı sağ kalım ve ölüm yolu apoptoz ile ilişkilendirebilir. Hücrelerin Sub-G1 popülasyonunda artış meydana gelmesi ve Akt protein seviyesindeki azalışın gerçekleşmesi hücrenin hayatta kalma oranının azalmasına yol açtığını orataya koyulmuştur. AMPK – hücrelerde western sonuçlarında AMPK yokluğunda ACC miktarı sabit kalmış Lipin ise azalmıştır. Lipin üzerinde ifade düzeyindeki azalmayı teşvik etkisi AMPK yoksunluğunda daha belirgin bir şekilde gözlenmiştir. mTOR etki eden Orlistat lipin seviyesini azaltmakta ve adipogenez, yağ asit metabolizması baskılamaktadır. Yolaklarda gösterilen majör protein farklılıklarına bağlı 2D-DIGE tekniği kullanılarak Orlistat uygulamasına bağlı olarak AMPK susturulması gerçekleştirilen iki hücre hattı için 4 katı ve üzeri değişiklikler saptanarak PDQuest (Biorad) programı ile analiz edilmiş ve elde edilen verilerin hangi moleküler ağırlık ve izoelektrik noktası dağılımı arasında olduğu belirlenmiştir. Bu bağlı tüm veri setinin filtrelendiği ve ortak artan protein spotlarının gösterimi ile 81 azalan protein spotuna karşın 10 tane ifade düzeyi artan spot gösterilmiştir. Bu nedenle filtre edilen veri setlerinde artan ve azalan gen sayılarından yola çıkılarak seçilen spotların kütle spektroskopisi sonuçlarının tüm yolak analizi açısından önemli veriler sağlayabileceğini düşünülmektedir. Orlistat hücrelerde doza bağımlı bir şekilde FASN ifadesine ket vururken, bu etki AMPK sessizleştirilmesi yapılmış hücrelerde gözlenmemiştir. Bu nedenle AMPK ifadesinin orlistat ve FASN etkileşimi açısından kritik rol oynadığı düşünülmektedir.

Elde edilen bulgular ışığında Orlistat'ın prostat kanser hücreleri üzerindeki yağ metabolizmasını düzenleyen önemli bir ajan olabileceği ve diğer kanser türlerindeki yetkin etkisinin araştırılarak tedavi amaçlı ilaç olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir.

SUMMARY

Prostate cancer is higher in men than in other types of cancer. Considering the rates of prostate cancer, risk factors and obesity in chronic diseases are a health problem that has increased in the last few years in the world. Many previous studies have shown that obese patients are more likely to develop cancer and have been shown to cause increased drug resistance by increasing aggressiveness in cancer cases. In addition, studies have shown that obesity causes an increase in body fat as well as aggression and metastasis due to elevated levels of hormones during prostate cancer development. In addition, studies showing that drugs used to treat obesity have an anti-tumor effect due to the suppression of lipogenesis and adipogenesis pathways in cancer development. Therefore, the development of new strategies for the elucidation, diagnosis and treatment of obesity and prostate cancer relationship is of great importance. Studies have also shown that Orlistat, frequently used in the treatment of obesity, induces apoptosis and suppresses tumor growth on cancer cells. In addition, Orlistat is the FASN inhibitor responsible for the synthesis of long-chain fatty acids and is known to exhibit anti-cancer effect for cancer species with FASN overexpression. When prostate cancer cell types are examined, the effect of fatty acid synthesis pathway, cholesterol metabolism disorder is seen in the development of prostate tumorigenesis, and the targets on this metabolic process are FASN and AMPK which is an effective metabolic sensor on cellular metabolism. The effects of AMPK on tumor development and its effects on lipogenic pathway in AR control in prostate cancer cells have been reported in several studies. Based on this pioneer information, AMPK silencing was performed in order to determine the role of AMPK in lipogenesis-related prostate cancer progression, and to determine its role in metastatic prostate cancer cell PC3 and prostate epithelial cell PNT1A cells. The change in the map was determined by 2D-DIGE method. The effect of orlistat on the phosphorylation of AMPK was inhibited by the inhibition of ACC and inhibition of the fatty acid metabolism of the cell as a result of its inhibition by inhibiting FASN in the lower pathway. It also significantly reduced cell proliferation and cell viability. It can associate orlistat's FASN inhibition survival and death pathway with apoptosis. An increase in the Sub-G1 population of the cells and the decrease in the Akt protein level lead to a decrease in the survival rate of the cell. In the absence of AMPK in the western

results of cells, the amount of ACC remained stable and the Lipin decreased. The effect of reducing the expression level on lipin was observed more clearly in AMPK deprivation. mTOR-acting Orlistat decreases lipin levels and adipogenesis suppresses fatty acid metabolism. Using the 2D-DIGE technique based on the major protein differences shown in the pathways, AMPK silencing was carried out by using PDQuest (Biorad) program for the two cell lines with AMPK silencing depending on the Orlistat application, and it was determined that the data obtained was between molecular weight and PI distribution. The entire data set was filtered and the common spot of increasing protein spots showed an increase in the expression level of 10 against the decreased protein spot of 81. Therefore, it is thought that mass spectroscopy results of selected spots can provide important data for all path analysis based on increasing and decreasing gene numbers in filtered data sets. While Orlistat inhibited FASN expression in a dose-dependent manner in cells, this effect was not observed in AMPK silenced cells. Therefore, AMPK expression is thought to play a critical role in the interaction of orlistat and FASN.

In the light of the findings, it was determined that Orlistat could be an important agent on regulating fat metabolism on prostate cancer cells and the competent effect on other cancer types could be used as a medicine for treatment.