

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CBIOPORTAL ARACI KULLANARAK FERROPTOZ DİRENCİ VE HASSASİYETİ
İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEHMET GÖKHAN ERTUĞRUL

EKİM 2024

ZONGULDAK BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CBIOPORTAL ARACI KULLANARAK FERROPTOZ DİRENCİ VE HASSASİYETİ
İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Gökhan ERTUĞRUL

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Kerem Mert ŞENSES

ZONGULDAK

Ekim 2024

KABUL:

Mehmet Gökhan ERTUĞRUL tarafından hazırlanan “Cbiportal Aracı Kullanarak Ferroptoz Direnci ve Hassasiyeti İle İlişkili Genlerin Araştırılması” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliğiyle kabul edilmiştir. 14/10/2024

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Kerem Mert ŞENSES
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Üye: Doç. Dr. Tolga ACUN
Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü

Üye: Doç. Dr. Can TÜRK
Ankara Lokman Hekim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Bölümü

ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım./....../20....

Prof. Dr. Fikret GÖLGELEYEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”

Mehmet Gökhan ERTUĞRUL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

CBIOPORTAL ARACI KULLANARAK FERROPTOZ DİRENCİ VE HASSASIYETİ İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI

Mehmet Gökhan ERTUĞRUL

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Kerem Mert ŞENSES

Ekim 2024, 49 sayfa

Kanser, dünyanın her ülkesinde önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Türkiye’deki kanser insidansı dünya insidansının üzerinde seyretmektedir. Kanser tipinden bağımsız olarak tüm kanser türleri kontrolsüz çoğalma ve apoptozdan kaçma fenotipi ile karakterizedir. Ferroptoz ise yakın zamanda tanımlanmış, hücresel homeostasisin korunması ve oksidatif stresin neden olduğu zararların engellenmesinde rol oynayan; apoptoz, otofaji ve nekrozdan farklı, programlı bir hücre ölüm şeklidir.

Çalışmada, cBioPortal veri tabanı ile farklı kanser türlerine ait fonksiyonel genomik verileri analiz ederek ferroptozla ilişkili olabilecek genleri araştırdık. Araştırmamızda cBioPortal veri tabanı ve web aracının kullanıcılara sunduğu, mutasyon profillemeye, gen ifadesi seviyelerini belirleme, hayatta kalım analizleri yapma, gibi özelliklerini kullanarak kanser veri setlerinde çok boyutlu keşifler yapmayı hedefledik.

ÖZET (devam ediyor)

Yaptığımız çalışmada NUDCD1 geniyle koeksprese olan EIF3E, DCAF13 genlerinin benzer mutasyon profillerine ve benzer mRNA ekspresyonlarına sahip olduğu görülmüştür. DCAF13 geninin hepatoselüler karsinomada, EIF3E geninin hepatoselüler karsinomada ve akciğer adenokarsinomada ferroptoz metabolizmasıyla ilgili olarak daha önce çalışılmamış olmaması, EIF3E geninin DCAF13 ile benzer kromozom bölgesinde bulunması bu genlere dikkat çekmektedir. Üç gende görülen mutasyonlar hastalardaki prognozu kötüleştirmektedir.

PVT1 geninin MYC geniyle birlikte yüksek düzeyde amplifike olduğunu ve benzer oncoprint ifadesine sahip olduğunu gördük. Meme kanserinde, her iki gen bakımından gen ifadesi değişen grupta prognoz %28,3 oranında olumsuz etkilenmektedir.

LIFR ve LCN2 mutasyonlarının; yumurtalık seröz kistadenokarsinoma, özofagus karsinom, mide adenokarsinomu, adrenokortikal karsinom, hepatoselüler karsinom ve berrak hücreli renal karsinom hastalıklarının prognozuyla ilişkili olduğu sonucuna ulaştık.

Elde edilen bulgular, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için temel oluşturabilir. Ferroptozu neden olan genlerin hedeflenmesi, kanser tedavisinde umut verici olabilir.

Anahtar Kelimeler: Ferroptoz, kanser, cbiportal, prognoz, nekroz, apoptoz, otofaji, glutatyon

Bilim Kodu: 401.02.00.

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

INVESTIGATION OF GENES ASSOCIATED WITH FERROPTOSIS RESISTANCE AND SENSITIVITY USING THE CBIOPORTAL TOOL

Mehmet Gökhan ERTUĞRUL

**Zonguldak Bülent Ecevit University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology**

Thesis Advisor: Assist Prof. Dr. Kerem Mert ŞENSES

Ekim 2024, 49 pages

Cancer is a leading cause of death worldwide, with higher incidence rates in Turkey than the global average. All cancer types characterized uncontrolled proliferation and escape from apoptosis. Ferroptosis, a newly identified form of programmed cell death distinct from apoptosis, autophagy, and necrosis, helps maintain cellular homeostasis and prevent oxidative stress damage.

In this study, we used the cBioPortal database to analyze functional genomic data across various cancer types, investigating genes potentially linked to ferroptosis. Our aim was to explore cancer data sets multidimensionally using features like mutation profiling, gene expression analysis, and survival analysis provided by the cBioPortal tool.

In our study, we observed that EIF3E and DCAF13 genes, which are coexpressed with NUDCD1 gene, have similar mutation profiles and similar mRNA expressions. The fact that

ABSTRACT (continued)

The DCAF13 gene has not been studied in hepatocellular carcinoma, and EIF3E has not been explored in hepatocellular carcinoma or lung adenocarcinoma in relation to ferroptosis metabolism. Both genes are located in similar chromosome regions, drawing attention to them. Mutations in these genes worsen patient prognosis.

We found PVT1 and MYC genes are highly amplified and show similar oncoprint expression. In breast cancer, altered expression of both genes worsens prognosis by 28.3%. LIFR and LCN2 mutations are linked to poor prognosis in ovarian serous cystadenocarcinoma, esophageal carcinoma, gastric adenocarcinoma, adrenocortical carcinoma, hepatocellular carcinoma, and clear cell renal carcinoma. These findings may guide new therapeutic strategies, with targeting ferroptosis-inducing genes as a promising approach for cancer treatment.

Keywords: ferroptosis, cancer, cbiportal, prognosis, necrosis, apoptosis, autophagy, glutathione

Science Code: 401.02.00.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının tamamlanmasında emeği geçen herkese içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Öncelikle, tez danışmanım Sayın Dr. Kerem Mert ŞENSES'e, çalışmamın her aşamasında değerli bilgilerini ve rehberliğini esirgemediği için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, bu süreçte her zaman yanımda olan değerli aile üyelerim Emine ERTUĞRUL, Nevzat ERTUĞRUL, Emel KIRIK ve Sibel AKDENİZ'e, arkadaşlarım Osman Dorukhan SOYER'e, Serkan BOZDAĞ'a ve Hakan HANÇERLİ'ye teşekkür ederim. Onların desteği olmadan bu çalışmayı tamamlamak çok zor olurdu.

Umarım, bu çalışma, alandaki araştırmacılara ve akademisyenlere katkıda bulunacaktır.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
 BÖLÜM 1 GİRİŞ	 1
1.1 HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI.....	1
1.1.1 Apoptoz.....	1
1.1.2 Nekroz.....	2
1.1.3 Otofaji	3
1.1.4 Ferroptoz	4
1.2 KANSER EPİDEMİYOLOJİSİ	7
1.3 KANSERDE KARSİNOGENEZ SÜRECİ.....	10
1.4 HÜCRE DÖNGÜSÜ VE KANSER.....	11
1.5 HÜCRE DÖNGÜSÜ VE FERROPTOZ İLİŞKİSİ.....	12
 BÖLÜM 2 MATERYAL VE METOD.....	 15
2.1 “IN-SILICO” ANALİZLER.....	15
2.1.1 Mutasyon, Hayatta Kalma Eğrileri, Oncoprint ve Ekspresyon Seviyelerinin Analizi	15
 BÖLÜM 3 ARAŞTIRMA BULGULARI.....	 19

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

Sayfa

3.1 NUDCD1 GENİNİN VE NUDCD1 GENİYLE İLGİLİ OLABİLECEK DİĞER GENLERİN FERROPTOZLA İLİŞKİSİ.....	19
3.2 C-MYC GENİNİN VE C-MYC GENİYLE İLGİLİ OLABİLECEK DİĞER GENLERİN FERROPTOZLA İLİŞKİSİ.....	26
3.3 LIFR VE LCN2 GENLERİ VE BU GENLERLE İLGİLİ OLABİLECEK DİĞER GENLERİN FERROPTOZLA İLİŞKİSİ.....	32
BÖLÜM 4 TARTIŞMA VE SONUÇ	39
4.1 ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Ferroptozun Moleküler Mekanizması.....	6
Şekil 1.2 Dünya Geneline Toplam Yeni Kansere Vakalarının Dağılımı.....	8
Şekil 1.3 2020 Yılına Ait Tüm Yaş Aralığı Ve Her İki Cinsiyette Tahmini Yeni Kansere Vaka Sayısı.....	9
Şekil 1.4 Kanserleşme Sürecinde Temel Mekanizmalar.....	11
Şekil 1.5 Hücre Bölünme Durumuna Bağlı Ferroptoz Hassasiyeti Mekanizmaları	13
Şekil 3.1 cBioPortal’da Hepatoselüler Karsinomda TCGA PanCancer Atlas Veri Setinde NUDCD1 Geni İle Koekspresye Olan Genler	20
Şekil 3.2 Hepatoselüler Karsinom ve Akciğer Adenokarsinoma Hastalıklarında TCGA PanCancer Atlas Veri Setinde NUDCD1, DCAF13, EIF3E, GPR137 Genlerinin Oncoprint Analizi.....	22
Şekil 3.3 TCGA PanCancer Atlas Veri Setinde NUDCD1, EIF3E, DCAF13 ve GPR137 Genleri Gen Ekspresyon Korelasyon Analizi	23
Şekil 3.4 Hepatoselüler Karsinomda NUDCD1 Geni için Amplifikasyon, Gain, Diploid, Shallow Deletion, Deep Deletion ve mRNA İfadesi	25
Şekil 3.5 Hepatoselüler Karsinom Tanısında Her İki Cinsiyette Yaş Gruplarına Bağlı Dağılım	26
Şekil 3.6 MYC Geninin Çeşitli Kanser Türlerinde Alterasyon Frekansı.....	28
Şekil 3.7 Yumurtalık Seröz Kistadenokarsinomda MYC ve PVT1 Genlerinin Oncoprint Analizi ve mRNA Ekspresyonu Korelasyon Grafikleri	30
Şekil 3.8 Meme Kanserinde MYC ve PVT1 Genlerindeki Değişime Bağlı Hayatta Kalma Eğrisi	31
Şekil 3.9 Çeşitli Kanser Türlerinde LIFR ve LCN2 Genlerine Ait Alterasyon Frekansları	33
Şekil 3.10 Özofagus Karsinom, Mide Adenokarsinomu, Adrenokortikal Karsinom, Hepatoselüler Karsinom ve Berrak Hücreli Renal Karsinom Hastalıklarının Cinsiyete Bağlı Dağılım Grafiği	35

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

No

Sayfa

Şekil 3.11 Özofagus Karsinom, Mide Adenokarsinomu, Adrenokortikal Karsinom, Hepatoselüler Karsinom ve Berrak Hücreli Renal Karsinom LIFR ve LCN2 Alterasyonlarına Bağlı Sağkalım Grafiği.....	36
---	----



ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1 Apoptoz ve Nekroz Farkları.....	3
Çizelge 1.2 Hücre Ölümü Çeşitleri ve Karakteristik Özellikleri	7
Çizelge 1.3 Ülkemizde 2012, 2018, 2020 Yıllarında Erkeklerde En Çok Görülen Kanseri Türü ve İnsidans Hızı Sıralaması.....	9
Çizelge 1.4 Ülkemizde 2012, 2018, 2020 Yıllarında Kadınlarda En Çok Görülen Kanseri Türü ve İnsidans Hızı Sıralaması.....	10
Çizelge 2.1 cBioPortal Üzerinden Elde Edilen Analizlerle İlgili Kanseri Türü Ve İlgili Veri Setleri	17



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

Fe^{+2}	: Ferröz demir
Fe^{+3}	: Ferrik demir
γ	: Gama

KISALTMALAR

GSH	: Glutathione
GPX4	: Glutathione Peroxidase 4
CDK	: Cyclin-Dependent Kinase
pRB	: Retinoblastoma Protein
HCC	: Hepatocellular carcinoma
LDH	: Lactate dehydrogenase
ROS	: Reactive Oxygen Species
WHO	: Worl Health Organization
IARC	: International Agency for Research on Cancer
RSL3	: Retinoblastoma-associated protein-like 3
RSL5	: Retinoblastoma-associated protein-like 5
BSO	: Buthionine sulfoximine
PUFAs	: Polyunsaturated fatty acids
RNAi	: RNA interference
IREB2	: Iron Responsive Element Binding Protein 2



BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 HÜCRE ÖLÜM MEKANİZMALARI

Çok hücreli canlılarda oluşan yeni hücre sayısı ve ölen hücre sayısı arasında homeostasiyi korumak adına süreklilik gösteren özelleşmiş mekanizmalar bulunmaktadır. Bu mekanizmalardan bir kısmı hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde rol alırken, bir kısmı da hücre döngüsünün inhibisyonunda görev alarak programlı hücre ölümlerine neden olurlar. Bu hücre ölüm tipleri apoptoz, nekroz, nekroptoz, otofaji, piroptoz, ferroptoz olarak ayrılmaktadır. Bu mekanizmaları anlamak sadece kanser hastalığının tedavisinde değil, nörodejeneratif ve otoimmün hastalıkların tedavisinde de yeni stratejiler geliştirilmesi açısından önemlidir (Değirmenci 2023).

1.1.1 Apoptoz

İlk kez 1972 yılında Avusturalya'lı patolog J.F.K. Kerr tarafından tanımlanmıştır. Apoptoz, kelime anlamı olarak “ağaçtan düşen yaprak” ya da “petalin çiçekten ayrılması” anlamlarına gelmektedir (Kerr vd. 1972). Tümör oluşumlarında sık olarak görülür ve pozitif ve negatif sinyaller ile aktif olarak düzenlenmektedir. Apoptoza karşı direnç gösterilmesi hücre kaybının azalmasına sebep olur. Bu durum da tümör hücresine avantaj sağlar (Rashed ve Ragab 2004). Nekrozdan farklı olarak apoptoz; fizyolojik ya da patolojik koşullara bağlı olarak görülür ve doğal olarak gerçekleşir. Programlı otonom hücre parçalanmasıdır (Fink ve Cookson 2005).

Apoptozun regülasyonunda kaspazların aktivasyonu, kalsiyum artışı, tümör baskılayıcı p53'ün aktive olması, Bcl-2 / Bax gen ailesi, seramid, sitokrom-c gibi proteinler etkilidir (Coşkun ve Özgür 2011). Bcl-2 / Bax gen ailesinden bazıları apoptoz inhibitörüyken bazıları ise apoptoz uyarıcıdır. Apoptozu uyaranlar, mitokondri membranının iyon geçirgenliğini azaltarak sitokrom-c gibi faktörlerin sitoplazmaya geçmesine neden olur (Kaneda vd. 1999). Bu, prokaspaz-9 aktivasyonunu ve kaspaz aktivitesini başlatır (Nagata 1997, Tomatır 2003).

Tüm kanser türlerinde, kanserin nedeninden ve tipinden bağımsız olarak apoptozdan kaçma görülür. Apoptoz mekanizmasındaki kontrol kaybı, farklılaşmalara neden olabilecek mutasyon birikimine ek olarak, kanserli hücrelerin hayatta kalmasına, anjiyogeneze ve tümörün agresiflik derecesinin artmasına neden olur. Apoptotik sürecin baskılanmasında kaspaz işlevi engellenebilir, Bcl-2 proteininin yüksek ekspresyon seviyesi ve Bax kaybı görülebilir (Değirmenci 2023).

1.1.2 Nekroz

Hücre ölümünün tesadüfen gerçekleştiği, genetik anlamda apoptoz gibi programlanmamış şeklidir. Aşırı radyasyona maruziyet, ısı, travma, enfeksiyon, yüksek basınç ve kimyasal maddeler nekroza neden olabilir. Nekroz sürecindeki bir hücrede; membran zarında bozulma, organellerde şişme, çeşitli DNA kırıkları, laktat dehidrogenaz (LDH) gibi çeşitli moleküllerin ekstraselüler alana kontrolsüz salınımı görülür (Değirmenci 2023).

Nekroz, apoptozdan farklı olarak; fizyolojik olmamakla birlikte, dış faktörlerin etkisiyle gerçekleşen hücrenin pasif ve kazara ölümüdür. Nekroz, hücrenin dış ortamındaki çevresel bozulmalardan kaynaklanır, ekstrem koşullara aşırı maruziyet durumunda görülür ve enflamasyona neden olur (Fink ve Cookson 2005). Bu farklar daha detaylı olarak Çizelge 1.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1 Apoptoz ve Nekroz Farkları

	Apoptoz	Nekroz
Nedenleri	Fizyolojik ve Patolojik şartlarda meydana gelebilir.	Fizyolojik bir ölüm şekli değildir. Fiziksel ya da kimyasal hasar ya da anoksi.
Hücrel Değişimler	Hücre büzülür	Hücre şişer
Çekirdekteki Değişimler	Kromatin nükleus membranında toplanır ve yoğunlaşır. DNA internükleozomal bölgelerden parçalanır.	-
Hücre zarındaki değişimler	Hücre membranı sağlamdır, küçük cisimciklere parçalanır.	Plazma membranı bütünlüğünü kaybeder, lizise uğrar.
İnflamasyon durumu	İnflamasyon oluşmaz	İnflamasyon görülür.
Metabolik Değişiklikler	Gen ekspresyonu değişir. Aktif Protein Sentezi Proteaz aktivasyonu	-

Nekroz, 4 mm'den daha büyük katı gelişen tümörlerde de görülür ve nekrotik kor bölgelerinde kemoterapi ya da radyasyon ile tedavisi çok zordur. Kanserli hastalarda nekrotik kor gelişiminin kötü prognoz ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Değirmenci 2023).

1.1.3 Otofaji

Otofaji; hücrel stres durumunda hücrenin hayatta kalmasını sağlayan, hasarlı ya da gereksiz organellerin, uzun ömürlü proteinlerin, diğer hücrel birleşenlerin parçalanmasını sağlayan katabolik süreçtir. Çift zarlı otofagozom ile karakterizedir. Otofagozomun dış zarı ile lizozom zarı birleşir. İçeriğindeki hasarlı organeller ve denatüre moleküller lizozomal hidrolazlar ile parçalanır (Anding ve Baehrecke, 2015). Otofaji mekanizmasının kontrol dışı kalması Alzheimer, kanser, bunama ve çeşitli kalıtsal hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Galluzzi vd. 2012).

Otofaji kanserli hücrelerde, tümör gelişimine ya da tümör baskılanmasına yol açabilir. Kanser ilk evrelerinde toksik düzeydeki mutajenlerin ortadan kaldırılmasını ve genetik hataların birikimini engelleyerek tümör oluşumunu engelleyebilir. Ancak ilerleyen evrelerde ise otofaji, yüksek düzeyde proliferatif olan kanser hücreleri için makromoleküllerin geri dönüştürülmesini ve yapıtaşı olarak bu hücrelerdeki artan metabolik talebin karşılanmasında kullanılabilir. Bu durum özellikle karaciğer, mide, meme, kolorektal başta olmak üzere çeşitli kanser türlerinin gelişmesine yol açmaktadır (Değirmenci 2023).

1.1.4 Ferroptoz

Demir tüm canlılar için önemli bir mikro besindir. Ancak aşırı demir yükü organizmada hücre ölümünün indüklenmesini sağlayabilir ve canlıya zarar verebilir (Tang ve Kroemer 2020). Ferroptoz terimi ilk kez 2012 yılında Scott J. Dixon tarafından kullanılmıştır (Değirmenci 2023). Ferroptoz, hücre içinde yüksek seviyede demir molekülü birikiminin neden olduğu, hücrede lipid peroksidasyonuna yol açan ve yeni keşfedilen bir hücre ölüm şekli olarak tanımlanmakta ve otofaji, apoptoz, nekrozdan morfolojik olarak ayrıldığı belirtilmektedir (Yu vd. 2017). Son yıllarda, yapılan araştırmalar ferroptozun bazı tümörlerin başlangıcında ve ilerlemesinde etkili olabileceğini ortaya koymuştur (Mou vd. 2019, Liang vd. 2019).

Endoplazmik retikulum, mitokondri, lizozom, golgi başta olmak üzere birçok organel ferroptoz mekanizmasının düzenlenmesinde rol almaktadır (Değirmenci 2023). Ferroptoz metabolizmasının ana düzenleyicisi mitokondri organelidir ve ROS (reactive oxygen species) ferroptozun ana kaynağıdır. Ancak mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun tek başına ferroptozu neden olup olmayacağı günümüzde hala tartışma konusudur (Battaglia vd. 2020). Hücre içinde çeşitli mekanizmalarla demir molekülünün artışı, serbest radikallerin birikimine bağlı oluşan oksidatif stres neticesinde hücre zarındaki yağ asitlerinin hasara uğraması ferroptozu neden olan iki ana faktördür. Ferroptozun moleküler mekanizması kompleks bir sinyal ağı tarafından düzenlenir. Sistem Xc inhibitörü olan Erastin, RSL3, RSL5, glutatyon (GSH) biyosentezinde inhibitör etki gösteren butioninsülfoksimin (BSO) ve ferroptoz indükleyici ajanlar ferroptozda etkilidir (Değirmenci 2023). Sorafenibin hepatoselüler karsinomlu bazı hücrelerde ferroptozu indüklediği, NRF2 ekspresyonunun ise sorafenib kaynaklı bu ferroptozu inhibe ettiği belirtilmiştir (Louandre vd. 2013). BSO γ -glutamil sistein'in inhibitörüdür, GPX4 aktivitesinin azalması ve artan ROS miktarıyla GSH'yi inhibe eder ve Ras mutasyonuna sahip hücrelerde ferroptozu neden olur (Yang ve Stockwell 2014,

Xie vd. 2016). RSL3, GPX4 inhibisyonuna neden olurken Sistem-Xc için inhibisyona neden olmaz (Yang ve Stockwell 2014). RSL5 ise erastin benzeri etki göstererek Sistem-Xc'yi hedefler ve ferroptozu neden olabilir (Yang ve Stockwell 2008).

Sistem Xc, SLC7A11 ve SLC3A2 genleri ile kodlanan Na^{+2} bağımlı, ferroptozu engellemeye yardımcı antiporter kompleksidir (Sato vd. 1999). Bu antiporter proteinleri hücre içindeki glutamati hücre dışına taşıırken, hücre dışındaki sistinin hücre içine taşınmasını sağlar. Sistin glutatyon sentezinin yapılmasında kullanılmak üzere sisteine dönüştürülür (Bridges RJ vd. 2012). GSH hücre hasarın önlenmesinde önemli role sahiptir. Sistem Xc'nin inhibe edilmesi hücrelerde SLC7A11'in gen ifadesinin artmasına neden olur (Lu vd. 2018). Yapılan çalışmalarda erastine bağlı olarak ferroptozu uğrayan hücrelerde çok daha düşük GSH düzeyine rastlandığı belirtilmiştir. (Yang ve Stockwell 2014).

Glutatyon peroksidaz 4 (GPX4), hücrelerin oksidatif stres düzeylerini denetleyen, lipid peroksidasyonunu önleyen bir proteindir (Ursini vd. 1982). GPX4, lipid hidroperoksitleri lipid alkollere indirgeyerek lipid peroksidasyonunu sınırlar ve bu sayede ferroptozu inhibe eder. Erastinin Sistem Xc'yi inhibe etmesi sonucunda GPX4'ün katalitik aktivitesi azalır. Hücre içinde sistein ve GSH seviyelerinde azalma görülür ve oksitlenmiş durumdaki çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) bulunduran fosfolipitlerin yıkılması önlenir. Buna ek olarak, hücre dışında artan glutamatın toksik etkisi sistein dengesizliğine neden olarak ferroptozu indükleyebilir (Değirmenci 2023).

Yüksek demir düzeyi, Fenton tipi reaksiyon ile ROS üretilmesine neden olur ve üretilen ROS, PUFA bulunduran fosfolipitlerin oksitlenmesini sağlayarak, GPX4'ün işlev kaybıyla beraber ferroptozu katkıda bulunur (Xie vd. 2016, Değirmenci 2023). Dolaşım halinde bulunan demir, transferrine bağlandıktan sonra ferrik demir (Fe^{+3}) formunu alır. Daha sonra endozomda demirin suda çözünür formu olan ferröz demire (Fe^{+2}) dönüşür. (Xie vd. 2016). Ferröz demir, ferritin ve demir bulunduran proteinlerde depo edilmektedir. Demir metabolizmasında görevli IRP1 ve IRP2 proteinleri ise hücre içi demir seviyelerini algılayıp demirin alınması ya da salınmasını düzenleyerek demir konsantrasyonunu ayarlar (Değirmenci 2023). Ferroptozun demir bağımlı gerçekleştiğinin doğrudan kanıtı, demir metabolizmasında ana transkripsiyon faktörü olan IREB2'nin susturulması olarak belirtilmiştir (Xie vd. 2016). RNAi ile baskılanan

The diagram illustrates the regulation of ferroptosis, a form of programmed cell death characterized by iron-dependent lipid peroxidation. It is divided into two main parts: the left side shows the general mechanism of ferroptosis, and the right side shows the specific regulation by SLC7A11.

General Mechanism of Ferroptosis (Left Side):

- Iron Metabolism:** Transferrin (orange oval) binds to transferrin receptors (blue ovals) on the cell membrane, delivering iron into the cell. Inside, iron is stored as ferritin (green ovals) or released as Fe^{2+} (green circle).
- Lipid Peroxidation:** Polyunsaturated fatty acids (PUFAs, blue circles) are oxidized by lipoxygenases (LOXs, purple oval) to form peroxidized PUFAs (PUFAs-OOH, blue circles with red lines).
- Iron-Dependent Lipid Peroxidation:** Fe^{2+} catalyzes the Fenton reaction, converting PUFAs-OOH into reactive lipid ROS (red starburst).
- Regulatory Factors:** Fe^{2+} levels are regulated by hepcidin (pink oval), which inhibits its release from ferritin. Other factors like NCOA4 (pink oval) and EGR1 (pink oval) are involved in ferritin degradation. The IREB2 (green oval) protein is also involved in iron regulation.
- Cellular Damage:** Lipid ROS leads to ferroptosis (red box). The process is also associated with mitochondrial damage (Otofojik bozulma, purple triangle) and the release of cytochrome c (green oval).

Regulation by SLC7A11 (Right Side):

- SLC7A11 Function:** SLC7A11 (brown oval) is a transmembrane protein that transports glutamate (green circle) into the cell and cystine (Sistin, green circle) out of the cell. It is inhibited by Erastin (red arrow).
- Cystine Metabolism:** Cystine is reduced to cysteine (Sistein, green circle) by the enzyme γ -GCS (pink oval). This process is inhibited by BSO (red arrow).
- Antioxidant Defense:** Cysteine is used for the synthesis of glutathione (GSH, pink square). GSH is oxidized to GSSG (pink square) by GPX4 (pink oval). GPX4 is inhibited by (1S,3R)-RSL3 (red arrow). GPX4 reduces PUFAs-OOH to PUFAs-OH (blue circles).
- Ferroptosis Regulation:** The balance between GSH and GSSG, and the activity of GPX4, determine whether lipid peroxidation leads to ferroptosis. Inhibition of SLC7A11 or γ -GCS, or inhibition of GPX4, leads to increased lipid ROS and ferroptosis.

Morfolojik olarak ferroptotik hücrelerin mitokondrilerinde hacim azalması, dış membranda bozulma, çift membranda yoğunluk artışı, krista kaybı gibi değişiklikler görülür (Dixon vd. 2012, DeHart vd. 2018). Aynı zamanda boş sitozolden oluşan yuvarlak, berrak bir hücre görüntüsü ferroptotik hücrelerin mikroskopik tanılmasında önemlidir (Agmon vd. 2018). Ayrıca Ferroptozda, nekroz ve apoptozdan farklı olarak hücrede büzülme, kromatin yoğunlaşması, apoptotik cisimciklerin oluşması, organel ve sitoplazmada şişme, hücre membranında yırtılma gibi durumlar görülmez (Li vd. 2020). Otofajiyle farkı ise otofagozomal vakuol oluşmaz (Li vd. 2020, Zhou vd. 2019). Çizelge 1.2’de diğer farklar gösterilmiştir.

Çizelge 1.2 Hücre Ölümü Çeşitleri ve Karakteristik Özellikleri

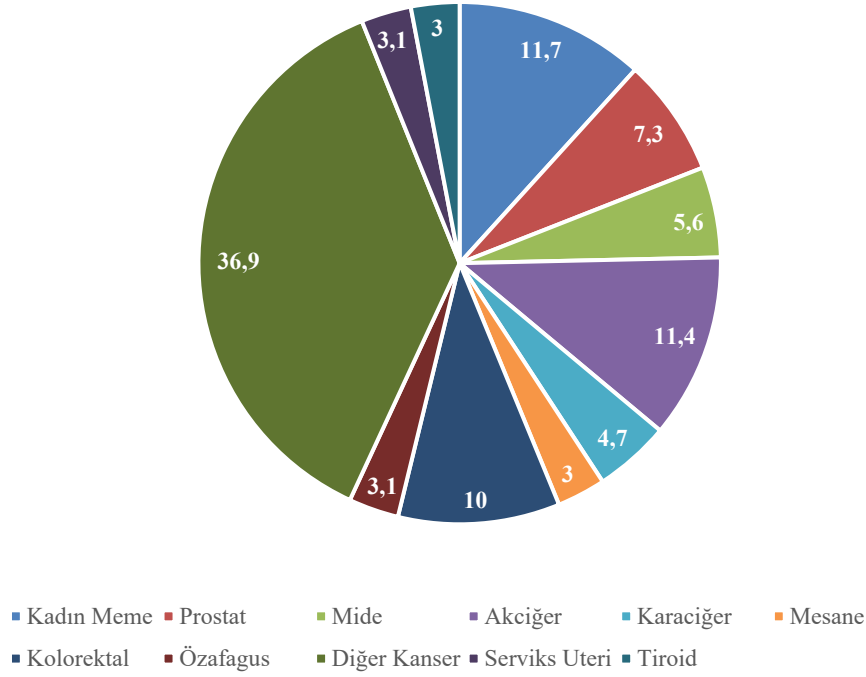
Hücre Ölüm Şekli	Karakteristik Özellik
<i>Apoptoz</i>	Kaspazlar aracılık eder, nükleer ve sitoplazmik yoğunlaşmaya bağlı hücresel fragmentlerin ve apoptotik cisimlerin oluşumunu içerir, inflamasyon yoktur.
<i>Nekroz</i>	Enfeksiyon, travma, iskemi gibi patolojik durumlar neticesinde kazara görülür. İnflamasyon vardır.
<i>Otofaji</i>	Ölen hücredeki hücresel bileşenlerin otofagozomal vakuollerde parçalanmasıdır. İnflamasyon yoktur.
<i>Ferroptoz</i>	Hücre yuvarlaklaşır, mitokondri dış zar bütünlüğünün bozulması, kristanın azalması veya kaybolması, normal nükleer boyut, kromatin yoğunlaşma kaybı.

2012 yılında tanımlanan ferroptoz ile ilgili ilk çalışmalar ferroptozun sinyal yollarına odaklanmışken, günümüzde ise kanser tedavisinde yeni stratejiler geliştirmeye yönelmiştir. Ferroptozun gen bazlı olarak kanser tedavisinde kullanımının avantajları arasında; düşük toksisiteye sahip olması, tek doz ile uzun vadeli tedavi imkanı sunması, endojen genlerin devre dışı bırakılabilmesi bulunmaktadır (Shen vd. 2018).

1.2 KANSER EPİDEMİYOLOJİSİ

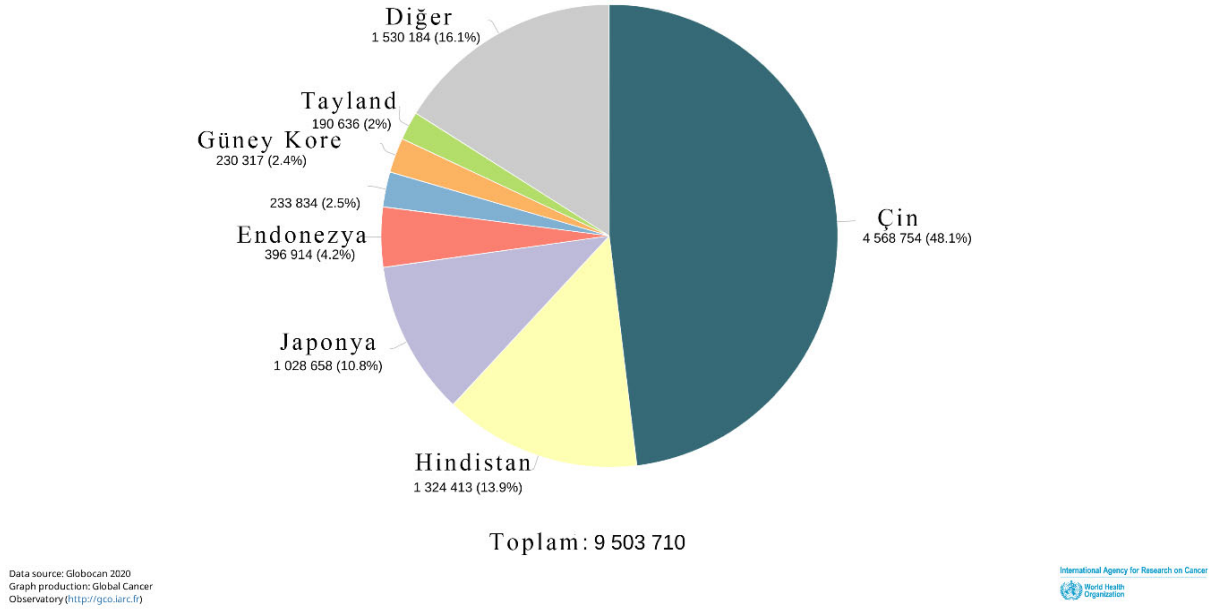
Günümüzde kanser, vücudun herhangi bir organ ya da dokusundaki hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve büyümesi sonucu ortaya çıkan bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (WHO, 2023). Yapılan araştırmalara göre kanserin tek bir sebebinin olmadığı; yaşam tarzı, bir takım genetik bozukluklar, bazı virüsler, kanser genleri gibi birden fazla nedeninin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kanserler oluştukları organ, bölge ve mikroskobik yapılarına göre sınıflandırılırlar. Türkiye'de her yıl 103 bini erkek, 71 bini kadın olmak üzere 174 bin kişi kansere yakalanmaktadır. Kanser, dünyadaki her ülkede önde gelen ölüm nedenlerinden biridir. Türkiye'deki kanser insidansı ise dünya insidansının üzerinde seyretmektedir. DSÖ 2019 tahminlerine göre 183 ülkenin 112 tanesinde 70 yaştan önceki ölümlerin birinci ya da ikinci, 23 ülkede de üçüncü veya dördüncü sırada bulunmaktadır (Değirmenci 2023). 2020 yılında ise dünya genelinde tahmini 19,3 milyon yeni kanser vakası ve yaklaşık 10,0 milyon kansere bağlı ölüm meydana gelmiştir. Kadınlarda meme kanseri, 2,3 milyon yeni vaka

(%11,7) ile en sık teşhis edilen kanser olarak akciğer kanserini (%11,4) geride bırakmıştır. Bunu kolorektal (%10,0), prostat (%7,3) ve mide (%5,6) kanserlerinin izlediği görülmüştür (Sung vd. 2021).



Şekil 1.2 Dünya Geneline Toplam Yeni Kanser Vakalarının Dağılımı

2020 yılında kanser tanısı konan hasta sayısı en fazla olan ülkeler; Çin (4.568.754), ABD (2.281.658), Hindistan (1.324.413), Japonya (1.028.658), Almanya (658.519), Brezilya (592.212), Rusya (591.371), Fransa (467.965), Birleşik Krallık (457.960), İtalya (415.269) olduğu düşünülmektedir (IARC 2023).



Şekil 1.3 2020 Yılına Ait Tüm Yaş Aralığı ve Her İki Cinsiyette Tahmini Yeni Kansere Vaka Sayısı

Ülkemizde 2012, 2018 ve 2020 yıllarına ait erkeklerde en sık görülen kanserlere bakıldığında en yaygın görülen kanser türü değişmemiştir. Mesane kanserinin insidansında 2012 yılından sonra azalma görülürken, akciğer, prostat ve mide kanseri insidansında artış görülmüştür (Öztürk ve Uyar 2021, IARC 2023).

Çizelge 1.3 Ülkemizde 2012, 2018, 2020 Yıllarında Erkeklerde En Çok Görülen Kansere Türü ve İnsidans Hızı Sıralaması

Kanser türü	2012		2018		2020	
	Sıralama	İnsidans	Sıralama	İnsidans	Sıralama	İnsidans
Akciğer Kanseri	1	66,8	1	70,6	1	74,8
Prostat Kanseri	2	40,7	2	41,7	2	42,5
Mesane Kanseri	3	24,6	3	22,9	3	22,9
Kolorektal Kanseri	4	23,1	4	27,4	4	26,2
Mide Kanseri	5	11,8	5	17,6	5	17,8

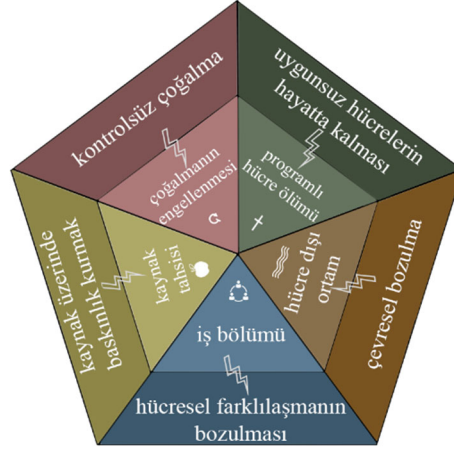
Türkiye’de 2012, 2018 ve 2020 yıllarına ait kadınlarda en yaygın görülen kanser türlerinin insidans hızına (Dünya Standart Nüfusu, 100.000 kişide) bakıldığında ise (Çizelge 1.4), meme kanserinde, kolorektal kanserde ve akciğer kanserinde artış olduğu görülmektedir (Öztürk ve Uyar 2021, IARC).

Çizelge 1.4 Ülkemizde 2012, 2018, 2020 Yıllarında Kadınlarda En Çok Görülen Kanser Türü ve İnsidans Hızı Sıralaması

Kanser türü	2012		2018		2020	
	Sıralama	İnsidans	Sıralama	İnsidans	Sıralama	İnsidans
Meme Kanseri	1	44,9	1	45,6	1	46,6
Tiroid Kanseri	2	23,0	2	22,4	2	22,4
Kolorektal Kanser	3	13,8	3	16,0	3	16,2
Uterus Korpus Kanseri	4	11,5	4	11,2	4	11,3
Akciğer kanseri	5	9,0	5	9,8	5	12,0

1.3 KANSERDE KARSİNOGENEZ SÜRECİ

Karsinogenez normal haldeki hücrenin kanserli hücreye dönüşme ve tümör oluşturma sürecini ifade eder. Bu süreçte kanser hücrelerinin; çoğalma sinyallerini sürdürebilme, metastaz ve invazyonu aktifleştirme, büyüme ve baskılayıcılardan kaçma, apoptoza direnç, telomeraz enzimi aktivitesindeki değişiklik sayesinde replikatif ölümsüzlüğe erişmek, bağışıklık tahribatından kaçma, damar sistemini indükleyebilme gibi özellikler kazandığı bilinmektedir (Değirmenci 2023). Kanser oluşum mekanizmasının temel aşamalarını ve kritik biyolojik süreçlerini Şekil 1.4 özetlemektedir.



Şekil 1.4 Kanserleşme Sürecindeki Temel Mekanizmalar

Şekilde görüldüğü üzere, kanser gelişimi birbirini izleyen çeşitli hücresel ve moleküler olayların sonucunda gerçekleşir. Başlangıçta, genetik mutasyonlar veya epigenetik değişiklikler sonucu hücre döngüsü ve büyüme kontrol mekanizmaları bozulur. Bu durum, hücrelerin aşırı çoğalmasına ve tümör oluşumuna yol açar (Aktipis 2019).

Kanser, hücrelerin kontrolsüz çoğalması ve normal hücre işlevlerinin bozulması sonucu ortaya çıkan karmaşık bir hastalıktır. Klinik tedavi sürecinde hastanın sağlık durumu için metastaza odaklanması önemlidir. Ancak doku mimarisinde bozulmalar, hücre farklılaşmasında görülen anormal durumlar, hücre ölümüne direnç gösterilmesi, kaynak kullanımının artırılarak hücresel enerji dinamiklerindeki meydana gelen değişimler, hücre işbirliğinin aksamması gibi durumlar bütüncül bir çerçevede değerlendirildiğinde klinik çalışmalarda daha etkili olabilir (Aktipis vd. 2015).

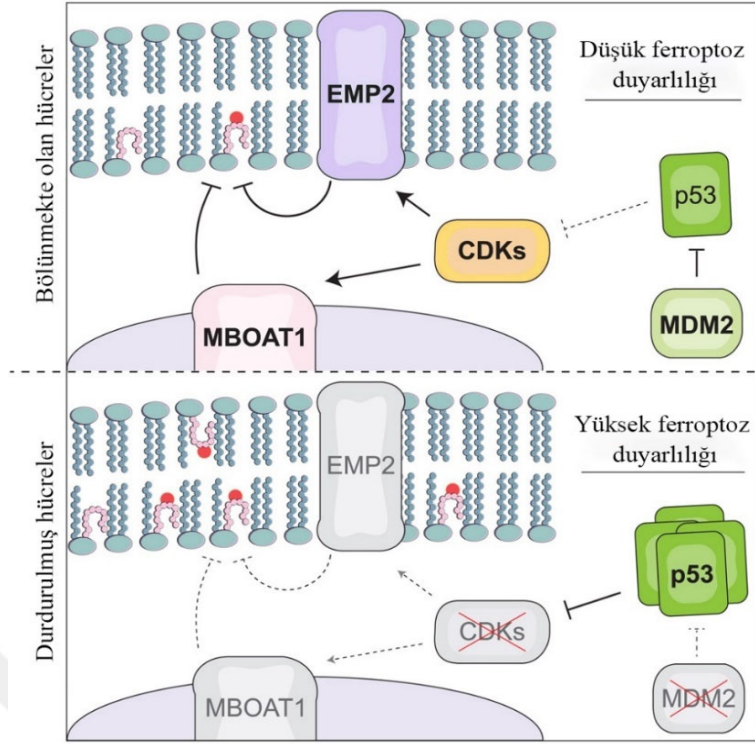
1.4 HÜCRE DÖNGÜSÜ VE KANSER

Hücre döngüsü interfaz ve mitotik evre olmak üzere iki kısımda gerçekleşir. İnterfaz, G1, S ve G2 evrelerinden oluşur. G1 aşamasındaki hücreler protein, ATP ve diğer gerekli metabolitleri sağlayarak DNA'larını eşlemek üzere S fazına geçerler. Hücre S fazına geçmediği takdirde G0 fazı olarak adlandırılan ve tekrar hücre döngüsüne girmeden önce uzun bir süre dinlenme sürecine geçerler. Fazlar arasındaki bu kompleks geçişin kontrolü; aktivatörler (siklinler, siklin bağımlı kinazlar) ve CDK inhibitörleri tarafından sağlanır. CDK'lerden farklı olarak siklinler döngünün belirli evrelerinde sentezlenirler ve görevleri CDK'ları aktifleştirmektir. Hücre döngüsünde görevli on beşten fazla olduğu bilinen

siklinlerden ilk olarak Siklin D'nin miktarı artar. D1, D2 ve D3 şeklinde üç formu bulunur ve diğerlerine göre daha dayanıksızdırlar (Golias vd. 2004, Kierszenbaum ve Tres 2006, Aktuğ 2014). Büyüme faktörlerinin CDK4 veya CDK6 ile olan etkileşimdeki siklin D1, D2 ve D3 aktivasyonunu sağlamasıyla G1 fazı başlatılır. Siklin D-CDK4/6 kompleksinin artan aktivitesi p53 inaktivasyonuna ve retinoblastoma proteininin (pRB) fosforilasyonuna neden olur. Bu sayede E2F salınımı indüklenerek gerekli besin maddeleri bulunmadığı durumlarda G1 kontrol noktasının inaktive edilmesini sağlar. Siklin E-CDK2'nin aktivasyonu, genlerden S fazına geçiş için gerekli olanların transkripsiyonunu sağlar. Döngünün S fazında ilerleyebilmesi ve DNA replikasyonunun gerçekleşmesi buna bağlıdır. G2 fazından mitotik evreye geçiş ise siklin A-CDK2 ve siklin B-CDK1 tarafından sağlanır.

1.5 HÜCRE DÖNGÜSÜ VE FERROPTOZ İLİŞKİSİ

Kanser hücrelerinde gen mutasyonu, gen inaktivasyonu, onkogenlerin aşırı ekspresyona veya amplifikasyona uğramaları sebebiyle siklin bağımlı kontrol mekanizması kaybedilir. Buna bağlı olarak CDK'ler upregüle edilebilir ve anormal transkripsiyon durumu görülebilir. CDK inhibitörlerinden p21'in transkripsiyonel aktivasyonu p53 geni tarafından sağlanır. Tümör baskılayıcı gen olan p53 hasarlı hücrelerin hücre döngüsünde bölünmesini engelleyen kontrol noktalarını tetikler ya da apoptoza yol açar. Bu gen birçok kanser türünde mutasyona uğrar. (Değirmenci 2023, Aktuğ 2014). p53 stabilizasyonu ve CDK4/6 inhibisyonuna bağlı olarak hücre döngüsünün durması, MBOAT1 ve EMP2 ifadesini azaltır. Özellikle EMP2 kaybı, lipid metabolizmasını değiştirerek hücreleri GPX4 inhibitörlerine karşı duyarlı hale getirir. Bu durum ferroptoza karşı duyarlılığı arttırmaktadır (Rodencal vd. 2023).



Şekil 1.5 Hücre Bölünme Durumuna Bağlı Ferroptoz Hassasiyeti Mekanizmaları (p53 stabilizasyonu ve CDK4/6 inhibisyonuna bağlı olarak hücre döngüsünün durması, MBOAT1 ve EMP2 ifadesini azaltır. EMP2 kaybı, lipid metabolizmasını değiştirerek hücreleri GPX4 inhibitörlerine karşı duyarlı hale getirir ve ferroptoz duyarlılığı artar (Rodencal vd. 2023).)

Şekil 1.5 CDK'ların ve p53/MDM2 etkileşiminin, hücrelerin ferroptoz duyarlılığını nasıl etkilediğini görsel olarak özetlemektedir. Bu durum, proliferatif ve hücre döngüsü durdurulmuş hücrelerin ferroptozu karşı farklı tepkiler göstermesine neden olur (Rodencal vd. 2023).



BÖLÜM 2

MATERYAL VE METOD

Araştırmada in siliko yöntemler kullanılmıştır. Çalışmada genomik verileri analiz etmek, görselleştirmek, biyobelirteçleri belirlemek, mutasyonları incelemek, gen ifadelerini karşılaştırmak, çeşitli kanser türlerindeki genetik değişiklikleri izlemek amacıyla www.cbioportal.com linki ile erişilebilen web tabanlı araç kullanılmıştır.

Tezde kullanılan Şekil 1.1 “Ferroptozun moleküler mekanizması” ve Şekil 1.4 Kanserleşme sürecindeki temel mekanizmalar” yayınlanan ilgili makalelerden Türkçeleştirilerek Adobe Photoshop 25.0 programı kullanılarak çizilmiştir.

2.1 “IN-SILICO” ANALİZLER

Eylül 2023’te ferroptoz ile ilişkili olabilecek genler hakkında literatür taraması yapılmıştır. Burada ferroptozla ilişkili olabilecek genler belirlenip, Mayıs 2024’e kadar meme kanseri, akciğer kanseri, kolon kanseri, prostat kanseri, karaciğer kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde ferroptozu indükleyen ya da inhibe eden bu genlerle benzerlik gösteren başka genler araştırılmıştır.

2.1.1 Mutasyon, Hayatta Kalma Eğrileri, Oncoprint ve Ekspresyon Seviyelerinin Analizi

NUDCD1 ifadesi, koekspresyon ve mutasyon analizinde TCGA PanCancer Atlas veri setinde Liver Hepatocellular Carcinoma (HCC) 348 örnek incelendi. TCGA PanCancer Atlas veri setinde liver hepatocellular carcinoma 348 örnekte NUDCD1, EIF3E, DCAF13 mRNA ekspresyonlarının karşılaştırması, NUDCD1, EIF3E, DCAF13, mutasyon profillerinin belirlenmesi, her iki cinsiyet için yaş grubu dağılımı ve oncoprint analizi yapılmıştır. Hepatoselüler karsinoma örneklerinin analizi yapılırken:

(a) cbiportal.org ana sayfadaki “Liver Hepatocellular Carcinoma (TCGA PanCancer Atlas)” seçildi, (b) “Query by Gene” seçeneğine tıklandı, (c) açılan sayfadaki “Select Genomic Profiles” kısmından “mRNA expression z-scores relative to diploid samples (RNA Seq V2 RSEM)” seçeneği eklendi, (d) “Enter Genes” alanında (Submit Query düğmesine tıklanarak) “NUDCD1” geni arandı, (e) “Co-expression” menüsüne tıklandı, (f) NUDCD1 geni ile birlikte en yüksek ve en düşük korelasyon gösteren ferroptozla ilişkili olabilecek genler belirlendi. Akciğer kanserinde analiz adımları : (a) cbiportal.org ana sayfadaki “Lung Adenocarcinoma (TCGA PanCancer Atlas)” seçildi, (b), (c), (d), (e), (f) kısımları hepatoselüler karsinoma ile aynı şekilde uygulandı. Lung Adenocarcinoma (LAC) hastalığında TCGA PanCancer Atlas veri setinde 503 örnekte; NUDCD1, EIF3E ve DCAF13 genlerine ait mutasyon profillerinin belirlenmesi, ekspresyonlarının karşılaştırılması ve oncoprint analizi yapılmıştır.

MYC geni www.cbiportal.com üzerinde (a) Breast Cancer (METABRIC, Nature 2012 & Nat Commun 2016) veri setinde araştırılmıştır. (b), (c), (e) NUDCD1 ile aynı şekilde uygulandı. (d) “Enter Genes” kısmında MYC geni yazıldı. (f) MYC geniyle birlikte en yüksek ve en düşük korelasyon gösteren, ferroptozla ilişkili olabilecek genler belirlendi. Aynı veri setinde RNF40 geni ile ilişkili mutasyon profili, hayatta kalma eğrisi ve hastalığın nüksetmeme süresi için Kaplan-Meier plot grafiği analiz edilmiştir. MYC geni Ovarian Serous cystadenocarcinomada (OSC) TCGA PanCancer Atlas verisetinde TP53 mutasyonlu 201 örnekte PVT1 mutasyonu oncoprint ifadesi araştırılmıştır.

Daha önceki çalışmalarda ferroptozla ilişkilendirilen SRXN1 geni www.cbiportal.com üzerinde (a) Anasayfadan “Liver Hepatocellular Carcinoma (TCGA PanCancer Atlas)” veri seti seçildi. (b) ve (c) aynen uygulandı. (d) “Enter Genes” kısmından SRXN1 geni 348 örnek üzerinde incelenmiş genetik alterasyon, mutasyon profilleri analiz edilmiştir. Aynı gen (a), (b), (c), (d) adımları benzer şekilde uygulanarak Breast Cancer (METABRIC, Nature 2012 & Nat Commun 2016) veri setinde incelenmiş, (f) adımında koeksprese olan genler kısmından CTDSP1 genine ulaşılmıştır. 1886 örnek ve “Cancer Type Detailed” kısmından Invasive Ductal Carcinoma filtrelenerek, “Mutated Genes” kısmından PIK3CA mutasyonlu örnekler seçilip CTDSP1 ile en yüksek co-ekspresyon seviyesine sahip XPOT genine ulaşılmıştır. XPOT geni Breast Cancer (METABRIC, Nature 2012 & Nat Commun 2016), Prostate Adenocarcinoma (MSK, Eur Urol 2020), Lung Adenocarcinoma Met Organotropism (MSK, Cancer Cell 2023), Kidney Renal Cell Carcinoma (TCGA, Firehose Legacy), Liver hepatocellular carcinoma

(TCGA, PanCancer Atlas) veri setlerinde incelenmiş, Gen alterasyonları ve hayatta kalma eğrileri analiz edilmiştir. Bu genle ilişkili RAE1 ve SDHA genlerine ulaşılmıştır.

PTEN geni Prostate Cancer (DKFZ, Cancer Cell 2018) ve Breast Cancer (METABRIC, Nature 2012 & Nat Commun 2016) veri setinde aratılmış, mutasyon profili ve mRNA ekspresyonları analiz edilmiştir. Invasive ductal carcinoma'lı 1472 örnek üzerinden PIK3CA mutasyonu olan örnekte TOMM40 genine ulaşılmıştır. Bu genin mutasyon profili, hayatta kalma eğrisi ve diğer meme kanseri çeşitlerinde Mutasyon-CNA ve mRNA verileri incelenmiştir. TOMM40, PTEN ve SDHA genlerinin bu hastalığa dair genetik alterasyon frekans grafiklerine ulaşılmıştır. SDHA geninde D92A mutasyonuna rastlanmıştır. cBioPortal web aracı kullanılarak elde edilen veritabanları tablo halinde Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1 cBioPortal Üzerinden Elde Edilen Analizlerle İlgili Kanser Türü ve İlgili Veri Setleri

Gen	Kanser Türü	Veri seti	Analiz	Link
NUDCD1- EIF3E- DCAF13- GPR137	HCC	TCGA PanCancer Atlas (n=348)	Oncoprint	https://bit.ly/3U8hLPo
NUDCD1- EIF3E- DCAF13	HCC	TCGA PanCancer Atlas (n=348)	Koekspresyon	https://bit.ly/4aNiBGT
NUDCD1- EIF3E- DCAF13	HCC	TCGA PanCancer Atlas (n=348)	Plot	https://bit.ly/457IBM7
NUDCD1- EIF3E- DCAF13	HCC	TCGA PanCancer Atlas (n=348)	Hayatta Kalma Eğrisi	https://bit.ly/3x13njS
NUDCD1- EIF3E- DCAF13- GPR137	HCC	TCGA PanCancer Atlas (n=348)	Koekspresyon	https://bit.ly/3KKSshw

Çizelge 2.1 (devam ediyor)

Gen	Kanser Türü	Veri seti	Analiz	Link
NUDCD1- EIF3E- DCAF13- GPR137	LAC	TCGA PanCancer Atlas (n=503)	Oncoprint	https://bit.ly/4dJs3g8
NUDCD1- EIF3E- DCAF13	LAC	TCGA PanCancer Atlas (n=503)	Koekspresyon	https://bit.ly/458MC2K
NUDCD1- EIF3E- DCAF13- GPR137	LAC	TCGA PanCancer Atlas (n=503)	Koekspresyon	https://bit.ly/45sVhNK
MYC	OSC	TCGA PanCancer Atlas (n=201)	Oncoprint	https://bit.ly/4ec9hPZ
MYC- PVT1	OSC	TCGA PanCancer Atlas (n=201)	Koekspresyon	https://bit.ly/459GgA8
PVT1	OSC	TCGA PanCancer Atlas (n=201)	Oncoprint	https://bit.ly/4aNbpKP
MYC- CDC42SE1	OSC	TCGA PanCancer Atlas (n=201)	Koekspresyon	https://bit.ly/4eppNMv
LIFR			Kanser Tipleri	https://bit.ly/3NpV45Q
LCN2			Kanser Tipleri	https://bit.ly/3YkXhph

Belirtilen linklerden çeşitli kanser türlerinde ilgili verisetleriyle ilişkili istatistiksel verilere, görsellere ve analiz sonuçlarına ulaşılabilir.

BÖLÜM 3

ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1 NUDCD1 GENİNİN VE NUDCD1 GENİYLE İLGİLİ OLABİLECEK DİĞER GENLERİN FERROPTOZLA İLİŞKİSİ

NUDCD1 geni çeşitli kanser türlerinde ekspresyon seviyesi artan bir onkogen olup yapılan çalışmalarda kanser biyolojisinde sıklıkla çalışılan SMMC7721 ve HepG2 hücre hatlarında ekspresyon seviyesinin arttığı, NUDCD1 geninin baskılanmasının hepatoselüler karsinoma hastalığında GPX4 ekspresyonunu azaltarak ferroptozu kolaylaştırdığı, NUDCD1 geninin baskılanmasının hepatoselüler karsinoma hücrelerinde proliferasyonu belirgin ölçüde azalttığı belirtilmiştir (Zhu vd. 2022).

Hepatoselüler karsinoma hastalığında TCGA PanCancer Atlas veri setinde NUDCD1 geniyle koeksprese olan genler araştırılmış ve bunların mutasyon profillerine ulaşılmıştır. Genler belirlenirken literatürde çeşitli kanser hastalıklarında ferroptoz mekanizması ile ilgili çok fazla çalışılmamış olmasına dikkat edilmiştir. Belirli bir kanserin ferroptoz metabolizmasında etkili ise bu genlerin diğer kanser çeşitlerindeki alterasyonunun araştırılması hedeflenmiştir.

NUDCD1 Geniyle Pozitif Korelasyona Sahip Genler

Correlated Gene	Cytoband	Spearman's Correlation	p-Value	q-Value
DCAF13	8q22.3	0.803	1.34e-79	2.22e-75
UTP23	8q24.11	0.802	2.22e-79	2.22e-75
VIRMA	8q22.1	0.772	4.34e-70	2.89e-66
PABPC1	8q22.3	0.771	7.28e-70	3.63e-66
WASHC5	8q24.13	0.762	3.05e-67	1.22e-63
ATP6V1C1	8q22.3	0.757	6.55e-66	2.18e-62
PTK2	8q24.3	0.747	2.64e-63	7.53e-60
EIF3H	8q23.3-q24.11	0.724	9.62e-58	2.40e-54
ZNF7	8q24.3	0.720	6.10e-57	1.35e-53
SLC25A32	8q22.3	0.718	1.80e-56	3.60e-53
RAD21	8q24.11	0.713	2.86e-55	5.18e-52
EIF3E	8q23.1	0.710	1.46e-54	2.44e-51
PABPC3	13q12.13	0.700	1.29e-52	1.97e-49
CYRIB	8q24.21	0.699	2.95e-52	4.21e-49
DSCC1	8q24.12	0.689	3.22e-50	4.29e-47
TATDN1	8q24.13	0.685	1.29e-49	1.61e-46
RRS1	8q13.1	0.682	6.68e-49	7.84e-46
OTUD6B	8q21.3	0.679	2.14e-48	2.37e-45
ZFAND1	8q21.13	0.673	3.25e-47	3.41e-44
AGO2	8q24.3	0.665	9.88e-46	9.86e-43
INTS8	8q22.1	0.664	1.27e-45	1.21e-42
EMC2	8q23.1	0.656	3.38e-44	3.07e-41
AZIN1	8q22.3	0.653	1.17e-43	1.02e-40
CHRA1	8q24.3	0.651	2.42e-43	2.02e-40
TBC1D31	8q24.13	0.651	2.76e-43	2.20e-40

NUDCD1 Geniyle Negatif Korelasyona Sahip Genler

Correlated Gene	Cytoband	Spearman's Correlation	p-Value	q-Value
GPR137	11q13.1	-0.508	2.91e-24	5.53e-22
SMPD1	11p15.4	-0.499	2.78e-23	4.47e-21
CNDP1	18q22.3	-0.499	2.92e-23	4.66e-21
SLC25A34	1p36.21	-0.490	1.92e-22	2.94e-20
GHR	5p13.1-p12	-0.484	8.44e-22	1.23e-19
CYP4V2	4q35.1-q35.2	-0.482	1.11e-21	1.59e-19
AMY2B	1p21.1	-0.472	9.58e-21	1.27e-18
AGXT	2q37.3	-0.470	1.60e-20	2.08e-18
TMEM129	4p16.3	-0.468	2.57e-20	3.31e-18
KDM8	16p12.1	-0.453	5.64e-19	6.36e-17
FAM149A	4q35.1	-0.451	8.51e-19	9.43e-17
ACACB	12q24.11	-0.446	1.93e-18	2.06e-16
XDH	2p23.1	-0.441	5.92e-18	5.97e-16
KLKB1	4q35.2	-0.437	1.10e-17	1.07e-15
IGFALS	16p13.3	-0.431	3.81e-17	3.63e-15
TXNDC11	16p13.13	-0.427	7.66e-17	7.08e-15
AMY1A	1p21.1	-0.424	1.40e-16	1.27e-14
NDRG2	14q11.2	-0.423	1.47e-16	1.33e-14
APOC3	11q23.3	-0.423	1.51e-16	1.36e-14
MAMDC4	9q34.3	-0.422	1.71e-16	1.52e-14
ACADS	12q24.31	-0.413	8.70e-16	7.42e-14
NR3C2	4q31	-0.412	1.04e-15	8.76e-14
KNG1	3q27.3	-0.411	1.32e-15	1.11e-13
PRKAG2	7q36.1	-0.411	1.34e-15	1.11e-13
FNDC5	1p35.1	-0.406	3.11e-15	2.52e-13

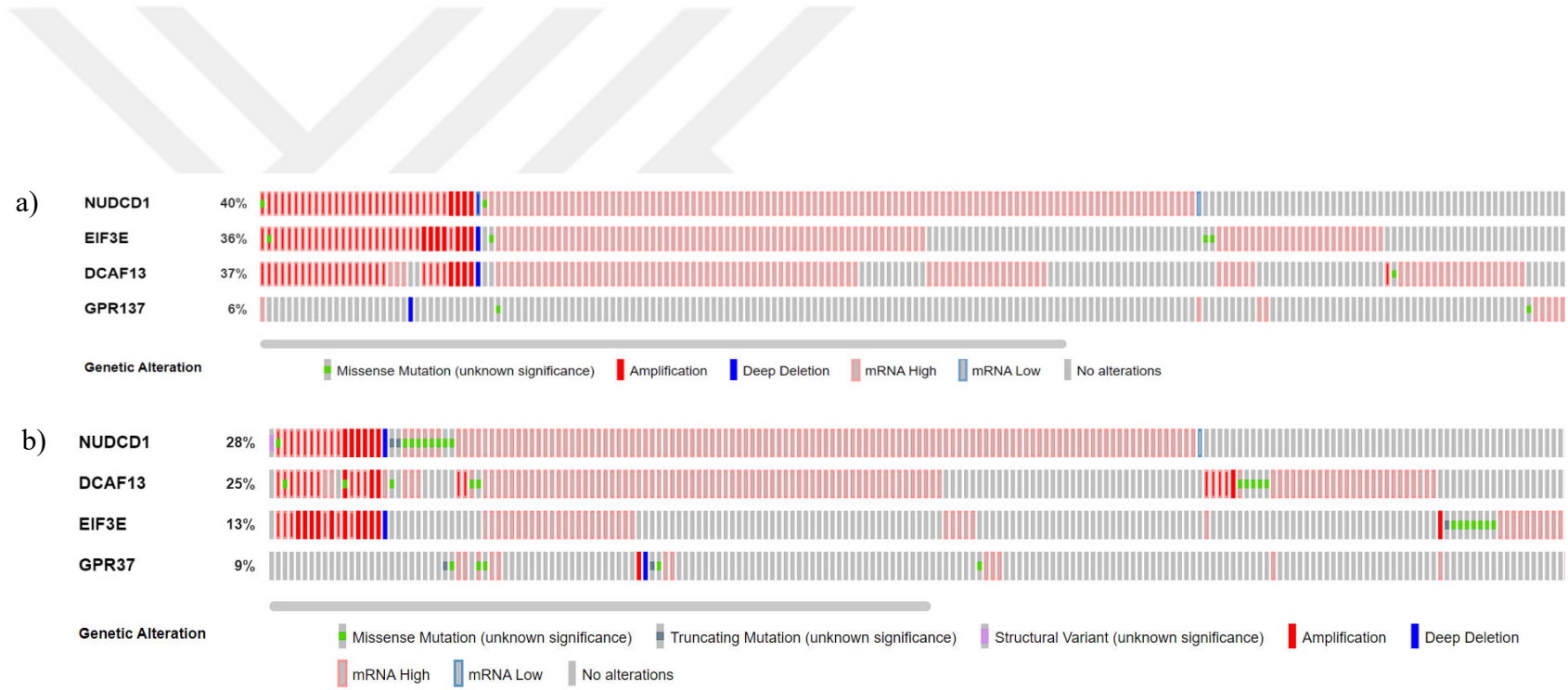
Şekil 3.1 Cbioportal'da Hepatoselüler Karsinomada TCGA PanCancer Atlas Veri Setinde NUDCD1 Geni ile Koeksprese Olan Genler. (Bu genler arasında DCAF13 ve EIF3E'nin NUDCD1 ile ifade olduğu görülmüştür. GPR137 geninin ise NUDCD1 ile negatif korelasyona sahip olduğu görülmüştür.)

Koekspresyon seviyesi en yüksek olan gen DCAF13 olarak belirlenmiştir. NUDCD1 geni 1q32.1 sitoband bölgesinde bulunurken DCAF13 geni ise 8q22.3 sitoband bölgesinde yer almaktadır.

DCAF13 geninin akciğer adenokarsinomalı hastalarda da aşırı ekspre edildiği, p53 proteini sinyal yolunun negatif bir düzenleyicisi olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Bu çalışmalarda DCAF13 geni akciğer adenokarsinomada kötü prognoz ile ilişkilendirilirken terapötik stratejiler için yeni bir biyobelirteç olabileceği belirtilmiştir (Wei vd. 2024). DCAF13 geniyle benzer sitoband bölgesinde bulunan (8q23.1) ve NUDCD1 geniyle yüksek pozitif korelasyonda koekspresyona sahip bir diğer gen olarak EIF3E genini araştırdık. Yapılan araştırmalarda EIF3E geninin mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna yol açarak Parkinson

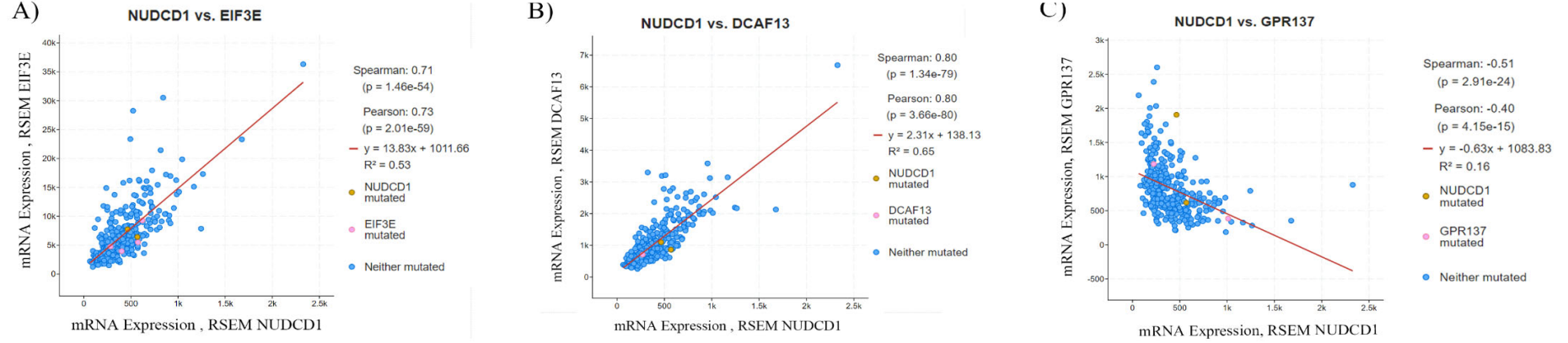
hastalığında ferroptozla ilişkilendirildiği belirtilmiştir (Dong-Chen vd. 2023). EIF3E geninin kanser hastalığında ferroptoz metabolizması ile ilişkisine rastlanmamıştır.

Cbioportal aracı kullanarak yaptığımız oncoprint analizinde NUDCD1, DCAF13, EIF3E genlerinin TCGA PanCancer Atlas veri setinde 348 hepatoselüler karsinomlu hasta örneklerinde benzer mutasyonlara uğradığını ve ekspresyonunun belirgin bir şekilde arttığı sonucuna ulaştık. NUDCD1, DCAF13 ve EIF3E genlerinin hepatoselüler karsinoma hastalığında benzer mutasyon profillerine sahip olması dikkat çekicidir. Ardından aynı genlerin oncoprint mutasyon profillerini akciğer adenokarsinomlu 503 hastada inceledik (TCGA PanCancer Atlas verisetinde kullanılmıştır). Akciğer adenokarsinomada TCGA PanCancer Atlas veri setinde 503 hasta örneğinde NUDCD1, DCAF13, EIF3E genlerinin oncoprint ifadelerine baktığımızda yine benzer alterasyonlara sahip olduklarını fakat alterasyon görülme oranının hepatoselüler karsinoma hastalığından daha düşük seviyede olduğunu belirledik. GPR137 geni oncoprint ifadede EIF3E, DCAF13 genlerinden daha düşük korelasyona sahiptir. Bu genlerin oncoprint analizi Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

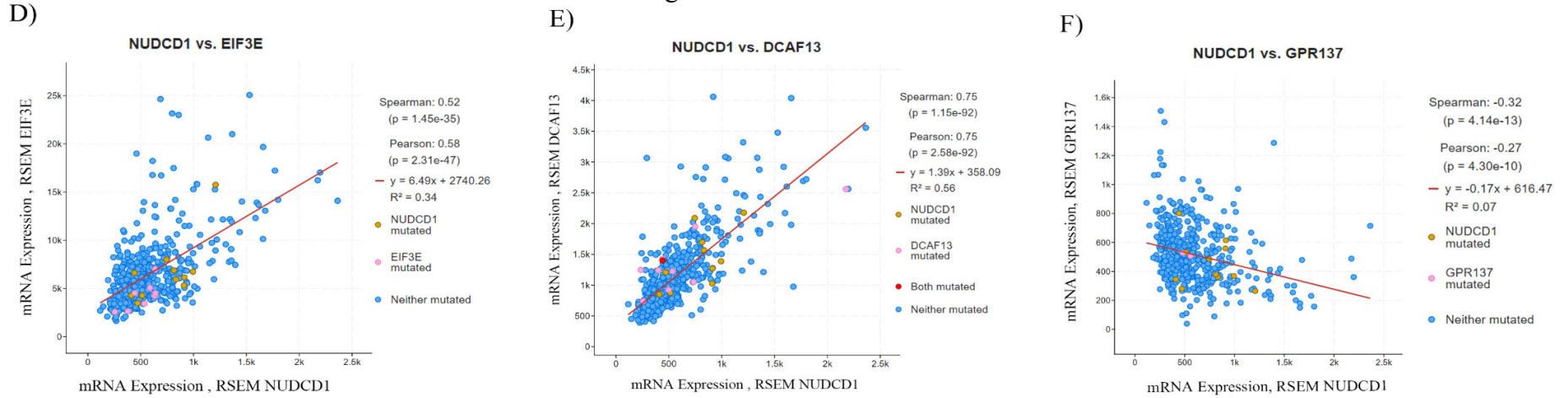


Şekil 3.2 Hepatoselüler Karsinoma ve Akciğer Adenokarsinoma Hastalıklarında TCGA PanCancer Atlas veri setinde NUDCD1, DCAF13, EIF3E, GPR137 Genlerinin Oncoprint Analizi (a: NUDCD1, DCAF13, EIF3E, GPR137 genlerinin TCGA PanCancer Atlas veri setinde (n=348) Hepatoselüler karsinoma oncoprint ifadesi, b: NUDCD1, DCAF13, EIF3E, GPR137 genlerinin TCGA PanCancer Atlas veri setinde (n=503) Akciğer Adenokarsinoma oncoprint ifadesi)

Hepatoselüler Karsinoma



Akciğer Adenokarsinoma



Şekil 3.3 TCGA PanCancer Atlas Veri Setinde NUDCD1, EIF3E, DCAF13 ve GPR137 Genleri Gen Ekspresyon Korelasyon Analizi (a: TCGA PanCancer Atlas veri setinde (n=348) ve liver hepatocellular carcinomada NUDCD1 ve EIF3E genleri ekspresyon korelasyonu; b: TCGA

Şekil 3.3 (devam ediyor) PanCancer Atlas veri setinde (n=348) ve liver hepatocellular carcinomada NUDCD1 ve DCAF13 genleri ekspresyon korelasyonu; c: TCGA PanCancer Atlas verisetinde (n=348) liver hepatocellular carcinomada NUDCD1 ve GPR137 gen ekspresyon korelasyonu; d: TCGA PanCancer Atlas veri setinde (n=503) ve lung adenocarcinomada NUDCD1 ve EIF3E gen ekspresyon korelasyonu; e: TCGA PanCancer Atlas veri setinde (n=503) ve Lung Adenocarcinomada NUDCD1 ve DCAF13 gen ekspresyon korelasyonu; f: TCGA PanCancer Atlas verisetinde (n=503) lung adenocarcinomada NUDCD1 ve GPR137 gen ekspresyon korelasyonu gösterilmiştir.)

Grafikteki NUDCD1, EIF3E ve DCAF13 genlerinin mRNA ekspresyon korelasyon grafiğinde her bir nokta tümör hücrelerini belirtmekte ve ilgili genlerin mRNA ekspresyon seviyelerini göstermektedir. Grafik (a), hepatoselüler karsinomada NUDCD1 ve EIF3E genlerine ait ekspresyon seviyelerini göstermektedir. Grafik incelendiğinde Spearman korelasyon katsayısı 0,71 ve Pearson korelasyon katsayısı 0.73'tür.

Grafik (b) incelendiğinde ise NUDCD1 ve DCAF13 genlerinin korelasyonuna göre Spearman ve Pearson korelasyon katsayısı 0.80'dir. Hepatoselüler karsinomada DCAF13 ve EIF3E genlerinin NUDCD1 ile güçlü pozitif yönlü bir korelasyon olduğu görülmektedir. Dolayısıyla bu üç genin regülasyonu birbirine benzer ve hepatoselüler karsinomada ferroptozla ilgili benzer etkiler gösteriyor olabilir.

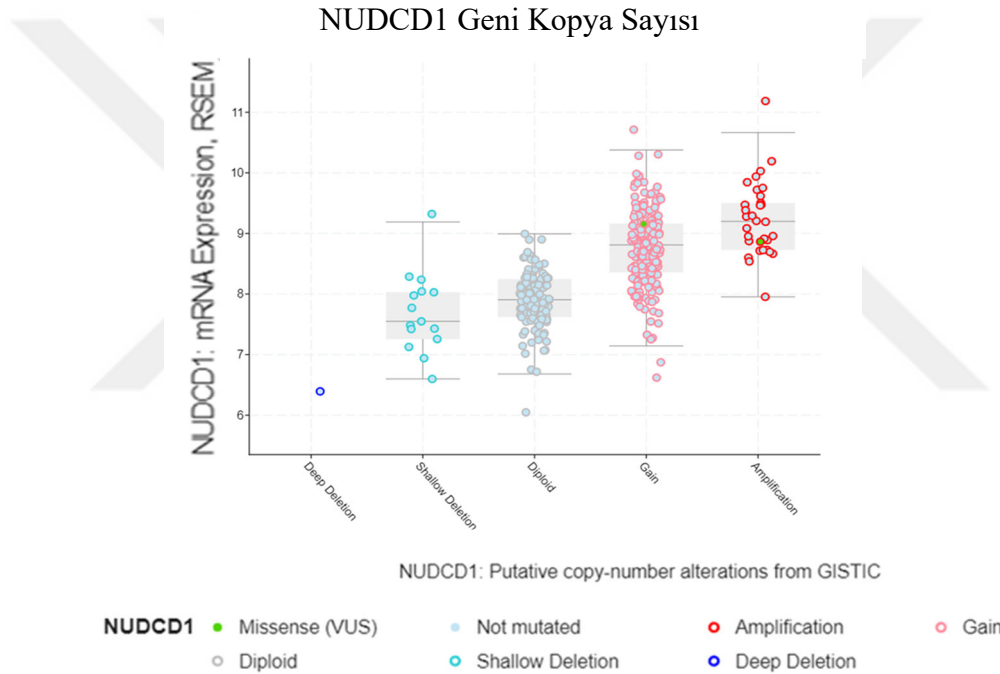
Grafik (c), hepatoselüler karsinomada TCGA PanCancer Atlas verisetinde NUDCD1 ve GPR137 genlerine ait ekspresyon seviyelerini göstermektedir. Grafik incelendiğinde Spearman korelasyon katsayısı -0,51 ve Pearson korelasyon katsayısı -0.40'tır. Negatif ve anlamlı bir korelasyon vardır fakat korelasyon katsayısı diğer gen ilgilerine göre daha düşüktür.

Grafik (d), akciğer adenokarsinomada TCGA PanCancer Atlas veri setinde NUDCD1 ve EIF3E genlerine ait ekspresyon seviyelerini göstermektedir. Grafik incelendiğinde Spearman korelasyon katsayısı 0,52 ve Pearson korelasyon katsayısı 0.58'dir. Grafik(A) ile karşılaştırıldığında hepatoselüler karsinoma göre korelasyon katsayısı daha azdır. Ancak anlamlı bir korelasyon ilgisi göstermektedir.

Grafik (e) incelendiğinde ise NUDCD1 ve DCAF13 genlerinin korelasyonuna göre Spearman ve Pearson korelasyon katsayısı 0.75'tir. Buradaki değer de anlamlıdır ve hepatoselüler karsinomla yakın düzeydedir.

Grafik (f) incelendiğinde ise NUDCD1 ve GPR137 genlerinin ekspresyonu TCGA PanCancer Atlas verisetinde negatif korelasyon göstermiştir. Spearman korelasyon katsayısı -0,32 ve Pearson korelasyon katsayısı -0,27'dir. Anlamlılık diğer grafiklerle karşılaştırıldığında düşüktür.

Görseldeki bilgiler, tümör örneklerinden elde edilmiştir. Bu, korelasyonun tüm dokularda ve tüm kanser türlerinde geçerli olmayabileceği anlamına gelir. Korelasyon, nedensellik anlamına gelmez. İki gen arasında korelasyon olsa bile, bu bir genin diğerini etkilediği anlamına gelmez. NUDCD1, EIF3E, DCAF13, GPR137 genleri arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

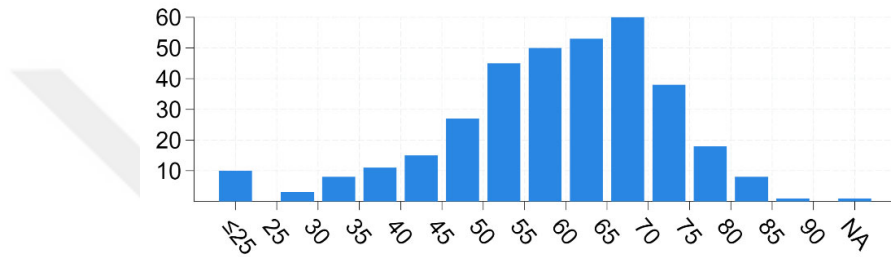


Şekil 3.4 Hepatoselüler Karsinomada NUDCD1 Geni İçin Amplifikasyon, Gain, Diploid, Shallow Deletion, Deep Deletion ve mRNA İfadesi (Her bir nokta hepatoselüler karsinomalı bireyi temsil etmektedir. Açıklamada, mutasyon türleri belirtilmiştir: Yeşil renkte (VUS) Missense, gri renkte Diploid, açık mavi renkte Shallow Deletion, koyu mavi renkte Deep Deletion, pembe renkte Gain ve kırmızı renkte Amplifikasyon gösterilmiştir)

NUDCD1 geninin kopya sayısındaki artışlar (amplifikasyon ve gain) mRNA ekspresyon seviyelerinde önemli artışa (Amplifikasyon için ekspresyon seviyesi: 8,5-10,5 ; Gain için ekspresyon seviyesi: 7,5 – 10,5 ; Diploid için ekspresyon seviyesi: 7-9) neden olmaktadır. Gen kopya sayısındaki azalmalarda ise mRNA ekspresyon seviyesi düşmektedir (Shallow Deletion için ekspresyon seviyesi: 7-8,5 ; Deep Deletion için ekspresyon seviyesi: Tek bir veri noktası yaklaşık 6,5 seviyesi)

Araştırdığımız hasta örneklerinde NUDCD1 geninin normalden daha fazla sayıda kopyasının bulunduğu ve aşırı kopyalandığı sonucuna ulaştık. Bu durum normalden daha fazla protein üretilmesine neden olup hepatoselüler karsinomlu kanser hücrelerinin büyümesini ve yayılmasını destekleyebilir.

Survival analiz için Kaplan-Meier yöntemi kullanılarak grafik oluşturulmuştur ve hastalığın tanısı konduğu süreden ölüm anına kadar olan 121 aylık sürede NUDCD1, DCAF13, EIF3E gen ifadesi değişikliklerinin hepatoselüler karsinomda hayatta kalma ile ilgisi her gen için ayrı ayrı araştırılmıştır. Ancak anlamlı bir logrank p-değeri elde edilememiştir (veri gösterilmiyor).



Şekil 3.5 Hepatoselüler Karsinom Teşhisinde Her İki Cinsiyette Yaş Gruplarına Bağlı Dağılım

Şekil 3.5'deki grafik, hepatoselüler karsinom hastalığının teşhis yaşını göstermektedir. . Grafiğe göre bu mutasyonların 50-75 yaş arasında görülme miktarı daha fazladır.

EIF3E ve DCAF13 genlerinin her ikisi de hepatoselüler karsinoma hastalığında daha önce ferroptozla ilgili olarak çalışılmamıştır. Bu genlerin ferroptozla olası ilişkisinin belirlenmesi bu hastalık için geliştirilecek yeni terapötik stratejilerde etkili olabilir.

3.2 C-MYC GENİNİN VE C-MYC GENİYLE İLGİLİ OLABİLECEK DİĞER GENLERİN FERROPTOZLA İLİŞKİSİ

Yapılan araştırmalarda ovaryum kanseri ve çeşitli kanser türlerinde c-MYC geninin aşırı ekspresyonunun demir metabolizmasının düzenleyici reseptörü olan NCO4A ekspresyonunu azalttığı, glutasyonu arttırdığı, ferroptozu inhibe ederek malign türleri ve bağışıklık sisteminden kaçışı desteklediği belirtilmiştir (Jin vd. 2022).

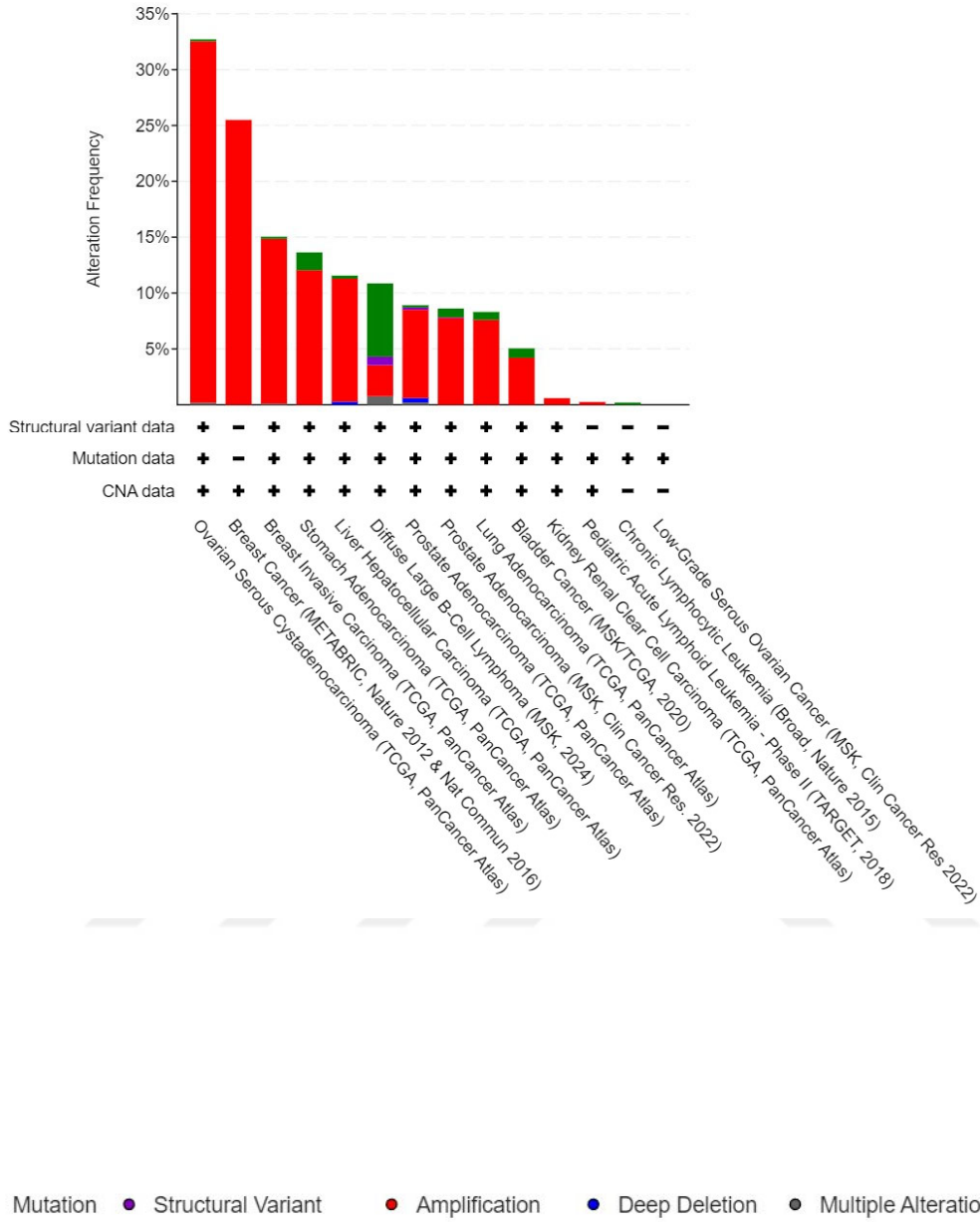
EGLN1/c-MYC kaynaklı, DNA onarımında ve bağışıklıkta rol oynayan lenfoid spesifik helikazın mekanizması üzerine yapılan araştırma, c-MYC geninin, ferroptoz ile ilişkili lipid

metabolizması genlerinin ekspresyonunu düzenleyerek ferroptozu inhibe ettiğini göstermektedir. Bu çalışmalar, c-MYC'nin, lenfoid spesifik helikazın (LSH) ekspresyonunu doğrudan aktive ederek ferroptozu inhibe ettiğini göstermektedir (Tao vd. 2017).

Bir başka çalışmada ise kanser ferrotoksik bir hastalık olarak değerlendirilmiş, BRCA1 eksikliğinin neden olduğu fenton reaksiyonu tabanlı karsinogenez sürecinde BRCA1 mutasyonuna sahip sıçanlarda demir metabolizmasının değiştiği ve mitokondri işlev bozukluklarına neden olduğu belirtilmiştir. Bunun yanında kromozom amplifikasyonları ve ferroptoz direncine sebep olmaktadır. Aşırı demire maruz bırakılan sıçanlarda nefrotoksisiteye bağlı renal hücre karsinomu gelişimi de gözlenmiştir. Bu metabolizma ve işlev bozukluklarının özellikle insan meme kanseri başta olmak üzere birçok kanser türünde sürücü gen olarak işlev gören c-MYC ile de ilişkili olabileceği düşünülmektedir. FISH analizi görüntülerine göre Renal Hücre Karsinomunda c-MYC amplifikasyonu görülmüştür (Kong vd 2022).

c-MYC geninin demir metabolizmasıyla ilgisine dikkat çeken bir başka çalışmada ise, hepatoselüler karsinomada c-MYC ile indüklenen GOT1'in glutamin yoksunluğuna bağlı ferroptozu karşı savunmada önemli görev üstlendiği ve bunun HCC için klinik hedefli stratejilerde önemli bir temele konulabileceği belirtilmiştir (Zhao vd. 2023).

Yaptığımız araştırmada, MYC geninin alterasyon frekansı çeşitli kanser türlerinde incelenmiştir. Ovaryum Seröz Kistadenokarsinom, Meme Kanseri, Mide kanseri ve Hepatoselüler karsinoma başta olmak üzere birçok kanser türünde mutasyona uğramıştır.



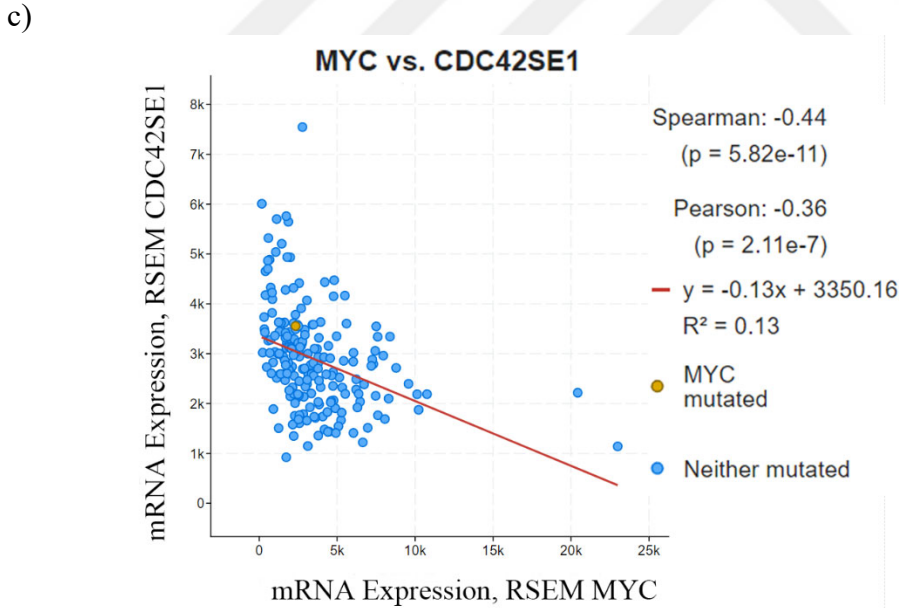
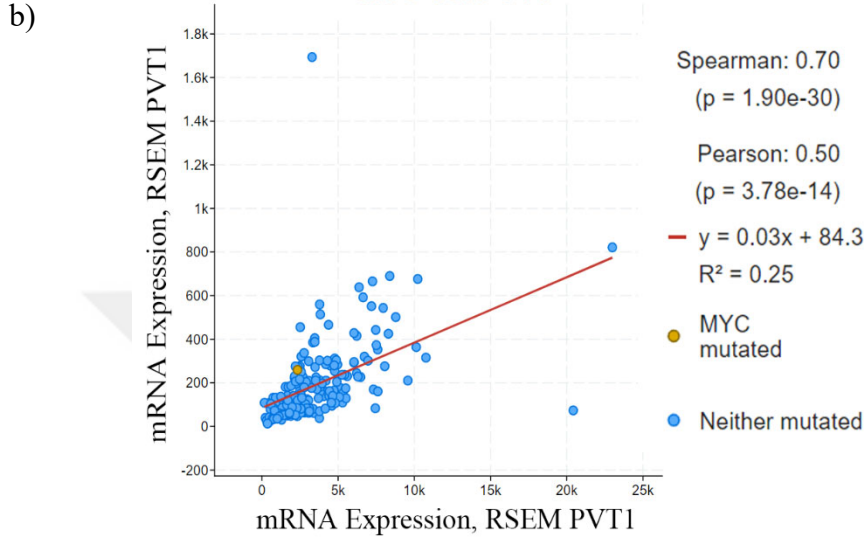
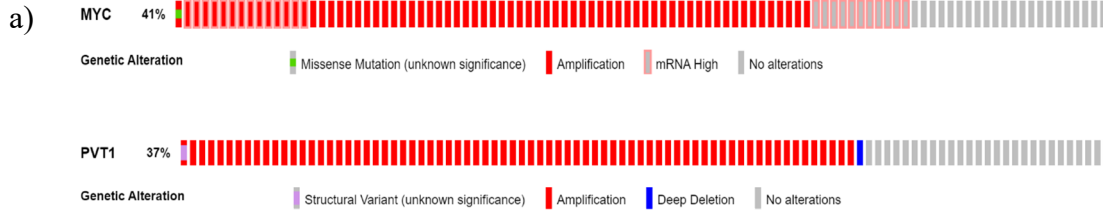
Şekil 3.6 MYC Geninin Çeşitli Kanser Türlerinde Alterasyon Frekansı (yumurtalık, meme, mide, karaciğer, prostat, kan, böbrek vs. kanserlerinde MYC geninin yapısal değişiklik (füzyon) mutasyon ve kopya sayısı verileri grafiksel olarak gösterilmektedir. Örneğin; cbiportal aracılığıyla erişilebilen TCGA PanCancer Atlas verisetindeki over seröz kistadenokarsinoma hastalarının yaklaşık %33'ünde MYC amplifikasyonu tespit edilmiştir.)

Yumurtalık seröz kistadenokarsinomda %32.36 (189 hasta) oranında, meme kanserinde %25.49 (554 hasta) oranında, invaziv meme karsinomunda %14.76 (160 hasta), mide adenokarsinomunda %12.05 oranında, hepatoselüler karsinomda %11.02 oranında (42 hastada), prostat adenokarsinomda %7.89 oranında (39 hasta), akciğer adenokarsinomada %7.6 oranında, mesane kanserinde %4.2 oranında, difüz büyük B hücreli lenfomada %2.78 (11 hasta)

oranında MYC geninin amplifikasyonuna rastlanmıştır. Berrak hücreli böbrek karsinom, pediatrik akut lenfoid lösemi, kronik lenfositik lösemide, genel genetik değişim türleri çok daha az görüldüğü, yumurtalığın düşük dereceli seröz karsinomunda ise herhangi bir genetik değişimin olmadığı belirlenmiştir. Şekil 3.6 ayrıca her bir kanser tipi için tüm genetik değişim türlerinin kombinasyonunu içermekte olup, mutasyon, amplifikasyon ve derin silinme gibi değişimlerin farklı oranlarda olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda TP53 geni mutasyonlarının özellikle meme ve yumurtalık kanserlerinde oldukça yaygın olduğu belirtilmiştir (Silwal-Pandit vd. 2017). TP53 mutasyonlarının seröz yumurtalık kanseri oluşumunda oldukça erken dönemde ortaya çıktığı ifade edilmiştir (Bernardini vd. 2010). Aynı zamanda demir metabolizmasının transkripsiyonel düzenlenmesinde de görev aldığı ve ferroptoz mekanizmasını şekillendirdiği bildirilmektedir (Dai vd. 2020). MYC ve TP53 genleriyle ilişkili olabilecek ve ferroptozda rol oynayabileceğini düşündüğümüz genlerin mutasyon profillerini ve ekspresyon seviyelerini incelemek için cbiportal aracını kullanarak yumurtalık seröz kistadenokarsinoma hastalığı için MYC genini araştırdık. Oncoprint analizine göre MYC geninin toplamda %41 oranında amplifikasyona, yüksek mRNA ekspresyonuna ve anlamlı mutasyona uğradığını gördük.

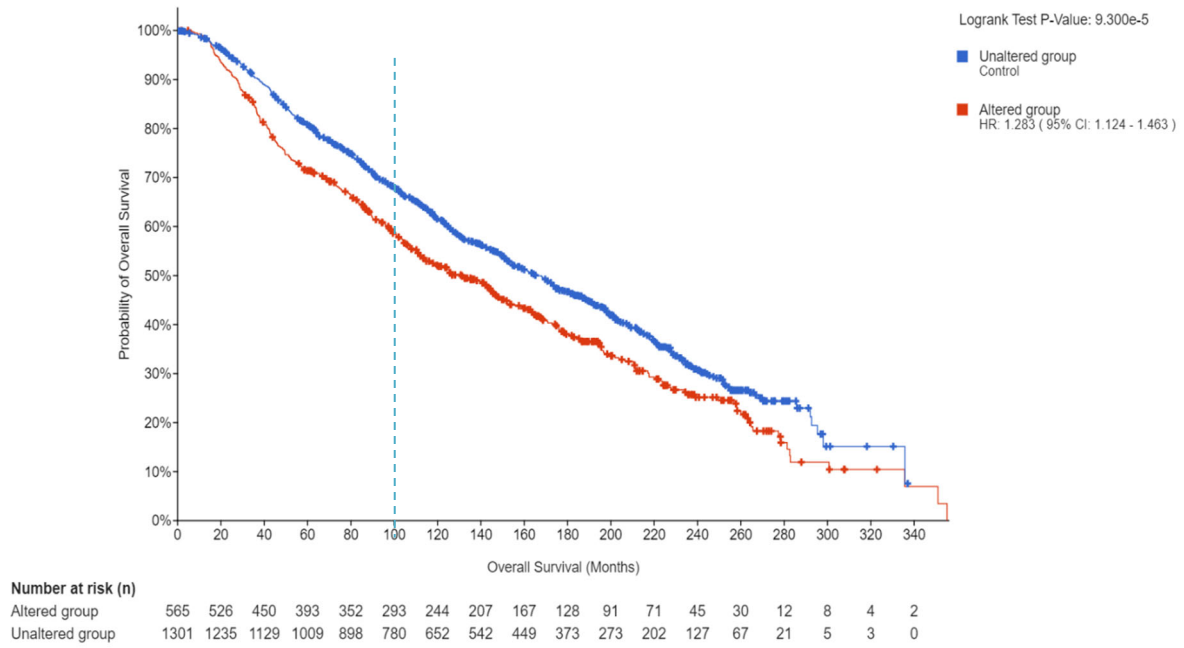
Yine cbiportal aracılığıyla, yumurtalık seröz kistadenokarsinom hastalığında TCGA PanCancer Atlas veri seti kullanarak 201 hasta örneğini filtreledik ve MYC ile birlikte TP53 genleriyle birlikte alterasyonu artan, mutasyona uğrayan genleri inceledik. Hastalarda PVT1 geninin %37 oranında genetik alterasyona uğradığını ve bunun da büyük bir kısmında amplifike olduğunu belirledik. PVT1 geni ile ilgili yapılmış, yumurtalık seröz kistadenokarsinom hastalığında ferroptoz ya da demir metabolizmasıyla ilgili herhangi bir çalışma olmaması, bu genlerin mRNA ekspresyonlarına bakıldığında görülen yüksek korelasyon seviyesi ve benzer gen alterasyonlarına sahip olması PVT1 geninin ferroptoz metabolizmasıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 3.7 Yumurtalık Seröz Kistadenokarsinomda MYC ve PVT1 Genlerinin Oncoprint Analizi ve mRNA Ekspresyonu Korelasyon Grafikleri (MYC ve PVT1 genlerinin oncoprint ifadesi a ile, MYC ve PVT1 genlerinin mRNA ekspresyonu korelasyon grafikleri b ile, MYC ve CDC42SE1 genlerine ilişkin mRNA ekspresyon korelasyon grafiği c ile gösterilmiştir.)

MYC ve PVT1 geni arasındaki ilişkiye meme kanserli hasta örneklerinde baktığımızda da yüksek oranda korelasyona sahip olduğunu gördük. Oncoprint analizinde meme kanserli 1866

hasta örneğinde her iki genin de yüksek düzeyde amplifike olduğunu, PVT1 geninde gen ifadesinin daha çok arttığını gördük. MYC ve CDC42SE1 genlerinin ifadelerine bakıldığında ise negatif korelasyon olduğu görüldü. Ancak MYC ve PVT1 arasındaki anlamlılık daha yüksektir. Meme kanserinde MYC ve PVT1 gen ifadesinde farklılıklar görülen gruba, bu genlerde herhangi bir değişim olmayan grubu 356 aylık zaman diliminde Kaplan-Meier sağkalım eğrisinde inceledik. Logrank testi değeri 0.000093'tür. Bu her iki eğri arasında anlamlı bir fark olduğunu göstermektedir.



Şekil 3.8 Meme Kanserinde MYC ve PVT1 Genlerindeki Değişime Bağlı Hayatta Kalma Eğrisi

MYC ve PVT1 gen ifadelerinde değişim görülen gruba ait bireylerin daha kısa yaşam süresine sahip olduğunu belirledik. Gen ifadesi değişmeyen grup kontrol grubu olarak seçildi ve $\pm 95\%$ güven aralığında risk oranı incelendiğinde sonucun 1.283 olduğunu gördük. Bu sonuca göre MYC ve PVT1 gen ifadesi değişen grubun, bu genler bakımından herhangi bir değişim görülmeyen gruba göre %28,3 oranında meme kanseri prognozunun daha kötü olduğu sonucuna ulaştık.

MYC ve PVT1 genindeki alterasyon görülen grup (kırmızı) ve alterasyon görülmeyen grup (mavi) karşılaştırıldığında; MYC-PVT1 genlerinde değişiklik görülmeyen hastaların 100. Ayda

%70 hayattayken, MYC-PVT1 genlerinde değişiklik görülen hastaların 100. ayda hayatta kalma oranı %60'tır.

PVT1 geni ile ilgili yapılmış, meme kanseri ve yumurtalık seröz kistadenokarsinom hastalığında ferroptoz ya da demir metabolizmasıyla ilgili herhangi bir çalışma olmaması, MYC geniyle mRNA ekspresyonlarına bakıldığında görülen yüksek korelasyon seviyesi, sağ kalım analizi ve benzer gen alterasyonlarına sahip olması PVT1 geninin de ferroptoz metabolizmasıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

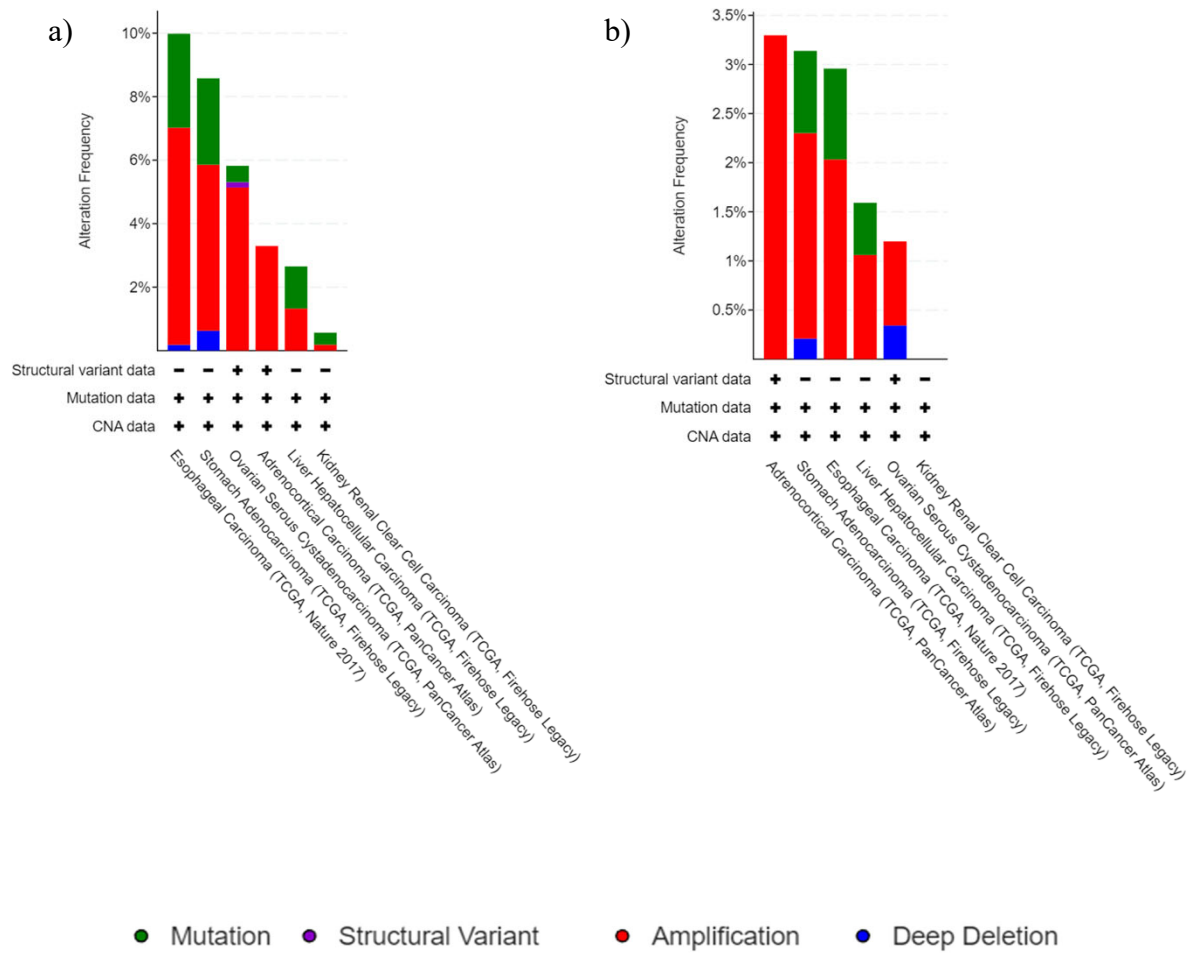
3.3 LIFR VE LCN2 GENLERİ VE BU GENLERLE İLGİLİ OLABİLECEK DİĞER GENLERİN FERROPTOZLA İLİşKİSİ

Yapılan alışmalar LIFR kaybının karaciğer tümör oluşumuna neden olduğunu ve ilaç direnci geliştirdiğini, bunun da LCN2'nin yukarı regölasyonuna bağlı gerçekleştiğini ortaya koymuştur. LCN2 demir tüketimine neden olduğundan, hücreleri ferroptoz indükleyici ajanlara karşı duyarsızlaştırdığı ve ferroptozun negatif düzenleyicisi olduğu belirtilmiştir. LCN2 geninin inhibe edilmesinin hepatoselüler karsinom birinci basamak tedavisinde sıklıkla kullanılan sorafenibin etkinliğini arttıracadı tahmin edildiğinden LCN2 terapötik bir hedef olarak belirlenmiştir. Bununla beraber hepatoselüler karsinomda bu genle beraber görülen en yaygın değişiklikler TP53, CTNNB1, ARID1A, AXIN1, ARID2, CCND1 ve VEGFA genlerinde olmuştur. LIFR adenoviral vektörlerle verildiğinde ise karaciğer dokularında LIFR protein seviyeleri artarak hepatoselüler karsinomlu farelerde yaşam uzunluğunu arttırmıştır (Yao vd. 2021).

LCN2 geni bir başka araştırmada ise kansere seçici olarak etki eden yedi ana ferroptoz dirençli gen (FPN, LCN2, FTH1, FSP1, GPX4, SLC7A11, NRF2) arasında gösterilmiş, ve bu genlerin baskılanmasıyla Ferroptosis ASSassinates Tumor (FAST) adında ferroptoz merkezli yeni bir kanser tedavisi belirtilmiştir. Bu inhibisyonda normal hücreler çok az etkilenirken, kanserli hücrelerde anti-tümör etkisi görüldüğü belirtilmektedir. 50%'den fazla kanserli farede bu tekniğin, üç farklı çeşit tümörü (lösemi, kolon kanseri ve akciğer metastatik melanom) yok ettiği ve farelerin tümör nüksetmesi olmadan 250 güne kadar yaşadığı bildirilmiştir. Buna ek olarak spontan meme kanserinin büyümesini önemli ölçüde engellediği ve farelerde sağkalımı arttırdığı tespit edilmiştir (Luo vd. 2022).

Bir başka araştırmada ise LCN2 geninin inhibisyonunun EGFR fosforilasyonunu ve aşağı sinyal aktivasyonunu inhibe ederek oral skuamöz hücreli karsinomda metastazı ve proliferasyonu in vitro ve in vivo olarak belirgin şekilde durdurduğu sonucuna ulaşılmıştır (Huang vd. 2023). Bu çalışmada ferroptozdan bahsedilmese de, bu kanser türünde de LCN2 geninin demir metabolizması üzerine etkili olabileceği düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada ferroptoz mekanizmasında etkili olan LIFR ve LCN2 genlerinin başta hepatoselüler karsinom olmak üzere çeşitli kanser türlerinde mutasyon profillerini inceledik. Bu genlerle ilgili olarak alterasyon frekanslarını karşılaştırdık (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 Çeşitli Kanser Türlerinde LIFR ve LCN2 Genlerine Ait Alterasyon Frekansları (a: LIFR, b: LCN2)

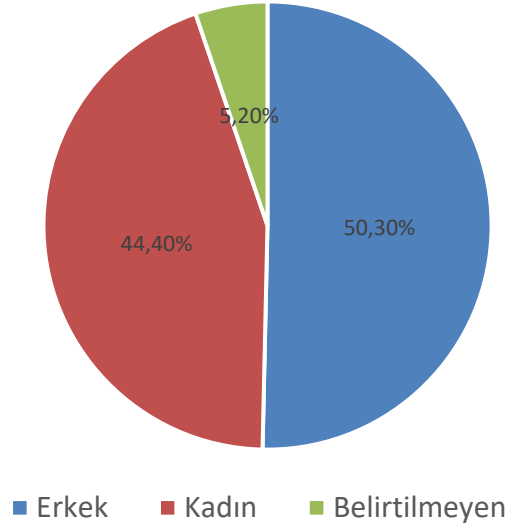
Grafik incelendiğinde LIFR geninde mutasyon ve kopyalanma sayısı değişiklikleri, LCN2 genine göre daha yaygındır. LIFR genindeki alterasyon farklarına bakıldığında, özofagus karsinomu, mide adenokarsinomu ve over seröz kistadenokarsinomunda LIFR geni yüksek düzeyde amplifikasyona uğramıştır. Sadece yumurtalık seröz kistadenokarsinomunda yapısal

varyant olarak LIFR ve TTC33 gen füzyonu görülmüştür. Normalde her ikisi de farklı genlerdir ve farklı proteinler üretir. Bir hata nedeniyle bu iki gen birleşerek farklı proteinler üretebilir ya da üretilen protein tamamen işlevsiz de olabilir. Bu füzyon genin birleşme şekli ve spesifik etkileri bilinmemektedir.

LCN2 geninde görülen mutasyonlar ise daha az yaygındır ve farklı kanser türlerinde daha dengeli bir dağılım göstermektedir.

LIFR ve LCN2 genlerine ait oncoprint analizi, bu genlerin farklı kanser türlerindeki rolü hakkında önemli bilgiler sağlayabilir. Bu bilgi, kanser tedavileri için bu genlerin hedeflenmesine yönelik gelecekteki araştırmalara yardımcı olabilir. Bu analizler yalnızca kanser örneklerinde mutasyonları ve kopya sayısı değişikliklerini gösterir. Bu değişimlerin tüm kanser vakalarında aynı şekilde ortaya çıkmadığını ve her mutasyonun veya kopya sayısı değişikliğinin kanseri ne ölçüde etkilediğinin değişebileceğini unutmamak önemlidir.

Grafikte (Şekil 3.10) belirtilen kanser türlerinin cinsiyetler arasındaki dağılımına bakıldığında ise daha çok erkek hastalarda görüldüğü sonucuna ulaşılmıştır. Belirtilen tüm kanser türleri için toplam 2631 hasta örneğinin 1323 tanesi erkek hastalara, 1168'i kadın hastalara aittir. 137 örnek için ise cinsiyet belirtilmemiştir.

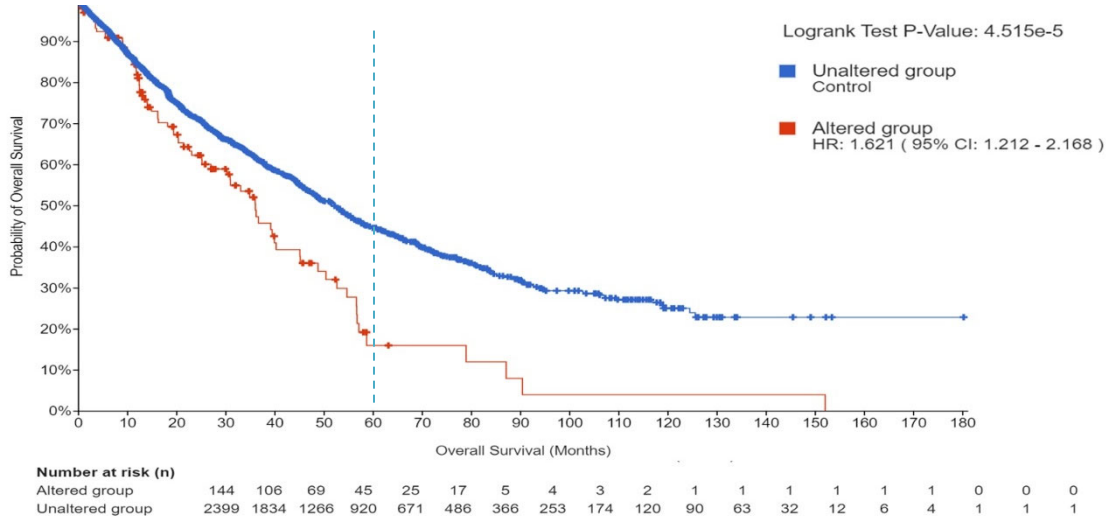


Şekil 3.10 Özofagus Karsinom, Mide Adenokarsinomu, Adrenokortikal Karsinom, Hepatoselüler Karsinom Ve Berrak Hücreli Renal Karsinom Hastalıklarının Cinsiyete Bağlı Dağılım Grafiği

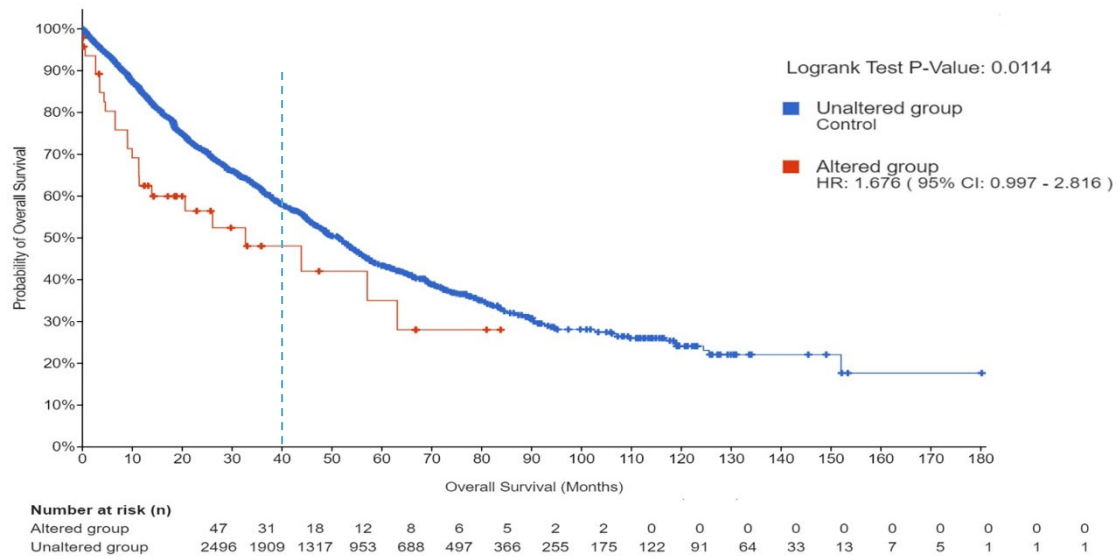
Over seröz kistadenokarsinomu hastalığı sadece kadınlarda görüldüğünden, bu hastalık bu dağılıma dahil edilmediğinde aradaki fark daha da açılmaktadır. Hastalıkların erkeklerde görülme ihtimali %64.8'e çıkmaktadır. Yani özofagus karsinomu, mide adenokarsinomu, adrenokortikal karsinom, karaciğer hepatoselüler karsinom ve berrak hücreli renal karsinom hastalıklarında erkekler daha yüksek risk altındadır.

Veri setinde kayıtlı toplam hastalar kaplan-meier sağkalım analiz grafiğinde 181 ay üzerinden incelendiğinde LIFR ve LCN2 mutasyonlarına ait etki daha açık ortaya çıkmaktadır (Şekil 3.11). Grafikte mavi ve kırmızı renklerle temsil edilen iki farklı grup yer almaktadır. Mavi renkli eğri "Kontrol" grubunu, kırmızı renkli eğri ise sırasıyla LIFR ve LCN2 genlerinde alterasyonlara sahip grubu göstermektedir. X ekseninde zaman (yıllar), Y ekseninde ise yüzde olarak ifade edilen hayatta kalma oranları gösterilmektedir. Ayrıca, her iki gruptaki "Risk Oranı" (Hazard Ratio - HR) ve ilişkili p değerleri verilmiş, bu da grupların birbirleriyle olan istatistiksel karşılaştırmalarını göstermektedir.

a) LIFR Geni



b) LCN2 Geni



Şekil 3.11 Özofagus Karsinom, Mide Adenokarsinomu, Adrenokortikal Karsinom, Hepatoselüler Karsinom ve Berrak Hücreli Renal Karsinom LIFR ve LCN2 Alterasyonlarına Bağlı Sağkalım Grafiği (a ile belirtilen grafikte LIFR mutasyonuna sahip bireylerin, bu genle ilgili mutasyonların görülmediği kontrol grubundaki bireylere göre %62.1 oranında, b ile gösterilen grafikte LCN2 mutasyonuna sahip bireylerin, bu genle ilgili mutasyonların görülmediği kontrol grubundaki bireylere göre %67.6 oranında prognozu daha kötüdür.)

Elde ettiğimiz veriler, log-rank testi P değerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlıdır ve %95 güven aralığındadır. LIFR için Logrank Testi P-Değeri: 4.515e-5 ve LCN2 için Logrank Testi P-Değeri: 0.0114'tür. LIFR ve LCN2 alterasyonuna sahip bireylerin sağkalım süresi önemli ölçüde azalmaktadır. Hayatta kalma oranı kontrol grubundaki bireyler için büyük ölçüde

daha yüksektir. Risk oranları değerlendirildiğinde LIFR mutasyonuna sahip bireylerin, bu genle ilgili mutasyonların görülmediği kontrol grubundaki bireylere göre %62.1 oranında, LCN2 mutasyonuna sahip bireylerin, bu genle ilgili mutasyonların görülmediği kontrol grubundaki bireylere göre %67.6 oranında prognozu daha kötüdür.

Şekil 3.11 a) LIFR genindeki alterasyon görülen grup (kırmızı) ve alterasyon görülmeyen grup (mavi) karşılaştırıldığında; LIFR geninde değişiklik görülmeyen 60.ayda %45'inden fazlası hayatta kalırken, LIFR geninde değişiklik görülen bireylerin ise sadece %20 si hayatta kalabilmektedir. b) LCN2 geninde alterasyon görülen grup (kırmızı) ve alterasyon görülmeyen grup (mavi) karşılaştırıldığında; LCN2 geninde değişiklik görülen grup 40.ayda %50'den fazlası hayatını kaybederken, değişiklik görülmeyen grupta ise bu oran %40 seviyesindedir.





BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmada çeşitli kanser türlerinde, hücre içinde yüksek seviyede demir molekülü birikiminin neden olduğu ve hücrede lipid peroksidasyonuna yol açan ferroptoz mekanizmasıyla ilişkili olabilecek genler cBioPortal web aracı üzerinde in-silico olarak araştırılmıştır.

Araştırmamızda ulaştığımız sonuçlara göre, GPX4 ekspresyonunu azaltan ve baskılandığında hepatoselüler karsinomali hücrelerde proliferasyonu anlamlı bir şekilde azaltan, ferroptoz metabolizmasında etkili olduğu Zhu vd. (2022) tarafından yapılan önceki araştırmalardan bilinen NUDCD1 geniyle koeksprese olan EIF3E, DCAF13 genlerinin benzer mutasyon profillerine ve benzer mRNA ekspresyonlarına sahip olduğu görülmüştür. Wei vd. (2024) yaptığı araştırmada DCAF13 geninin akciğer adenokarsinomali hastalarda aşırı ekspre edilerek p53 sinyal yolunu negatif düzenlediği ve bu hastalığın biyobelirteci olabileceğini öne sürmesi nedeniyle sonrasında NUDCD1, EIF3E ve DCAF13 genleri akciğer adenokarsinoma hastalığında karşılaştırılmıştır. Benzer örüntüler hepatoselüler karsinoma hastalığındaki kadar yüksek korelasyona sahip olmasa da anlamlı sonuçlara ulaşılmıştır. DCAF13 geninin hepatoselüler karsinomada, EIF3E geninin hepatoselüler karsinomada ve akciğer adenokarsinomada ferroptoz metabolizmasıyla ilgili olarak daha önce çalışılmamış olmaması, EIF3E geninin DCAF13 ile benzer kromozom bölgesinde bulunması bu genlere dikkat çekmektedir.

Hepatoselüler karsinomada NUDCD1, EIF3E ve DCAF13 genlerinin alterasyona uğradığı grup ve kontrol grubu olarak seçilen bu genlere ait alterasyonun görülmediği grup kaplan-meier sağkalım eğrisinde karşılaştırıldığında gen ifadeleri değişen grubun prognozu daha kötü ilerlemiştir. NUDCD1, EIF3E ve DCAF13 genlerine ait mutasyonların görülme ihtimalinin her iki cinsiyet için 50-75 yaş arasında arttığı görülmüştür.

Jin vd. yaptığı (2022) çalışmada ovaryum kanseri ve çeşitli kanser türlerinde c-MYC geninin aşırı ekspresyonunun ferroptoz metabolizmasının düzenleyici reseptörü NCO4A ekspresyonunu azalttığı, glutasyonu arttırdığı ve ferroptozu inhibe ederek kanserli hücrelerin bağışıklık sisteminden kaçışını desteklediği belirtilmiştir. Kong vd (2022) c-MYC geninin meme kanseri ve renal karsinomda amplifikasyona uğradığını ve bu durumun demir metabolizmasında değişikliğe sebep olduğu, mitokondri işlev bozukluğuna yol açtığı sonucuna ulaşmışlardır. Zhao vd. (2023) hepatoselüler karsinomada c-MYC geniyle birlikte indüklenen GOT1'in glutamin yoksunluğuna bağlı olarak ferroptozu karşı savunmada rol aldığını ve klinik hedefli stratejilerde önemli olduğunu belirtmişlerdir. c-MYC geninin çeşitli kanser türlerindeki bu alterasyonu yaptığımız çalışmada farklı kanser türlerindeki c-MYC geninin etkisini araştırmaya yönlendirmiştir. Yaptığımız çalışmada c-MYC geninin, Yumurtalık seröz kistadenokarsinomada %32.36 (189 hasta) oranında, meme kanserinde %25.49 (554 hasta) oranında, invaziv meme karsinomunda %14.76 (160 hasta), mide adenokarsinomunda %12.05 oranında, hepatoselüler karsinomada %11.02 oranında (42 hastada), prostat adenokarsinomda %7.89 oranında (39 hasta), akciğer adenokarsinomada %7.6 oranında, mesane kanserinde %4.2 oranında, difüz büyük B-hücreli lenfomada %2.78 (11 hasta) oranında amplifike olduğu sonucuna ulaştık.

Yumurtalık seröz kistadenokarsinomada TP53 mutasyonuna sahip hastalarda MYC geniyle ilişkili olabilecek genleri araştırdık. PVT1 geninin MYC geniyle birlikte yüksek düzeyde amplifike olduğunu ve benzer oncoprint ifadesine sahip olduğunu gördük. Meme kanseri hastalığında bu genlerde alterasyona görülen ve alterasyon görülmeyen (kontrol grubu) örnekleri Kaplan-Meier sağkalım grafiğinde 356 aylık sürede incelediğimizde elde ettiğimiz sonuç anlamlıydı. $\pm 95\%$ güven aralığında bu genlerde alterasyona sahip bireylerde risk oranı 1.283'tür. Bu sonuca göre MYC ve PVT1 gen ifadesi değişen grupta, %28,3 oranında prognoz kötüleşmiştir.

4.1 ÖNERİLER

Bu çalışmada, çeşitli kanser türlerinde hücre içi demir birikiminin ve lipid peroksidasyonuna yol açan ferroptoz mekanizmasıyla ilişkili olabilecek genlerin in-siliko analizleri gerçekleştirilmiştir. Özellikle NUDCD1, EIF3E ve DCAF13 genleri üzerinde yoğunlaşmış ve bu genlerin ferroptoz metabolizmasındaki rollerine dair önemli bulgular elde edilmiştir. NUDCD1 geni baskılandığında hepatoselüler karsinomada proliferasyonu anlamlı şekilde

azaltmakta ve ferroptoz metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bu genin, EIF3E ve DCAF13 genleriyle koeksprese olduğu ve benzer mutasyon profillerine sahip olduğu belirlenmiştir. DCAF13 geni, akciğer adenokarsinomlu hastalarda aşırı ekspre edilerek p53 sinyal yolunu negatif düzenlemektedir. Bu genin hepatoselüler karsinoma ve akciğer adenokarsinomada ferroptoz metabolizmasıyla ilgili olarak daha önce çalışılmamış olması, dikkat çekicidir. Elde edilen bulgular, yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için bir temel oluşturabilir. GPX4 ekspresyonunu azaltan ve ferroptozu neden olan genlerin hedeflenmesi, kanser tedavisinde umut verici olabilir. Bu bağlamda, NUDCD1, EIF3E ve DCAF13 genlerinin klinik potansiyelleri derinlemesine araştırılmalıdır.

c-MYC geninin çeşitli kanser türlerinde (yumurtalık seröz kistadenokarsinoma, meme kanseri, invaziv meme kanseri, mide adenokarsinoma, hepatoselüler karsinoma, prostat adenokarsinoma, akciğer adenokarsinoma, mesane kanseri, difüz büyük B hücreli lenfoma) amplifikasyona uğradığı ve ferroptoz mekanizmasını inhibe ederek kanserli hücrelerin bağışıklık sisteminden kaçışını desteklediği belirlenmiştir. Yumurtalık seröz kistadenokarsinoma ve meme kanseri hastalarında, TP53 mutasyonuna sahip bireylerde MYC geni ile ilişkili olabilecek genlerin araştırılması sonucu, PVT1 geninin MYC geniyle birlikte yüksek düzeyde amplifike olduğu ve bu genlerdeki alterasyonların hastalık riskini artırdığı saptanmıştır. MYC ile koeksprese olan genler arasından TAOK2 genine ulaşılmıştır. Meme kanserinin en yaygın türlerinden olan invaziv duktal karsinoma 1472 örnek üzerinden incelenmiş ve PIKCA3 mutasyonu olan örnekte TAOK2 ile en yüksek ekspresyona sahip RNF40 genine ulaşılmıştır. c-MYC ve PVT1 genlerinin kanser türlerindeki rolleri ve ferroptoz mekanizmasıyla ilişkileri daha detaylı bir şekilde incelenmelidir. Bu genlerin inhibisyonu üzerine yapılacak çalışmalar, özellikle yüksek risk gruplarında, hastaların sağkalım oranlarını artırabilir. Bu genlerin daha geniş örneklem gruplarında ve farklı kanser türlerinde araştırılması önemli olabilir. Ferroptoz mekanizmasının kanser biyolojisindeki rolü daha ayrıntılı olarak incelenmelidir.

Kanserli hastaların genetik profilleri, hastalığın erken teşhisi ve kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımları için kullanılmalıdır. Özellikle ferroptozla ilişkili genlerdeki mutasyonların belirlenmesi, hastaların tedavi süreçlerinde önemli bir rol oynayabilir. Ferroptoz mekanizmasını hedefleyen yeni ilaçların geliştirilmesi, kanser tedavisinde yeni bir yol açabilir. Bu bağlamda, ferroptozu indükleyen veya inhibe eden moleküllerin keşfi ve geliştirilmesi teşvik edilmelidir.

Bu alışma, ferroptoz mekanizması ve kanser biyolojisi arasındaki ilişkiye dair önemli ipuçları sunmakta ve gelecekteki araştırmalar için değerli bir temel oluşturmaktadır. Elde edilen bulguların klinik uygulamalara dönüşmesi, kanser tedavisinde yeni ve etkili stratejilerin geliştirilmesine katkıda bulunabilir.



KAYNAKLAR

- Agmon E, Solon J, P Bassereau, BR Stockwell** (2018). Modeling the effects of lipid peroxidation during ferroptosis on membrane properties. *Sci. Rep.*, s. 8: 5155.
- Aktipis C A, Amy M Boddy, Jansen G, Hibner U, Michael E, Hochberg E, Maley C and Wilkinson S G** (2015). Cancer across the tree of life: cooperation and cheating in multicellularity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, s. 370(1673), 20140219.
- Aktipis A.** (2019). Üçüncü Bölüm: Çok hücreli İşbirliğinde Hile. *Hilekar Hücre: Kanseri anlayıp tedavi etmemize evrim nasıl yardımcı olur*. ISBN: 978-625-8022-75-9, Koç Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 37-64
- Aktuğ H** (2014). Apoptozis ve hücre döngüsü. *Ege Tıp Dergisi* , s. 53(1), 60-64.
- Anding L A and Baehrecke E H** (2015). Autophagy in Cell Life and Cell Death. *Current Topics in Developmental Biology*, s. 114: 67-91.
- Barisic K, Petrik J and Rumora L** (2003). Biochemistry of apoptotic cell death. *Acta Pharm.*, s. 53: 151-164. .
- Battaglia A M, Chirillo R, Aversa I, Sacco A, Costanzo F and Biamonte F** (2020). Ferroptosis and Cancer: Mitochondria Meet the “Iron Maiden” Cell Death. *Cells*, s. 9(6): 1505.
- Bernardini M, Baba T, Lee P, Barnett J C, Sfakianos G P, Secord A A, Murphy S, Iversen E, Marks J R and Berchuck A** (2010). Expression signatures of TP53 mutations in serous ovarian cancers. *BMC cancer*, s. 10, 1-10.
- Bridges R J, Natale N R and Patel S A** (2012). System xc (-) cystine/glutamate antiporter: an update on molecular pharmacology and roles within the CNS. *Br J Pharmacol.*, s. 165:20–34. .
- Brouckaert G, Kalai M, Krysko D V, Saelens X, Vercammen D, Ndlovu M N, Haegeman G, D'Herde K and Vandenabeele P** (2004). Phagocytosis of necrotic cells by macrophages is phosphatidylserine dependent and does not induce inflammatory cytokine production. *Molecular Biology of the Cell*, s. 15: 1089-1100.
- Coşkun G ve Özgür H** (2011). Apoptoz ve Nekrozun Moleküler Mekanizması . *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, s. 20(3), 145-158.
- Dai C, Chen X, Li J, Comish P, Kang R and Tang D** (2020). Transcription factors in ferroptotic cell death. *Cancer gene therapy*, s. 27(9), 645-656.
- Değirmenci İ** (Ed.) (2023). *Kanser Genetiği ve Moleküler Biyolojisi*. Baskı No: 1, ISBN: 978-625-427-542-5, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 538 s.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- DeHart D N, Fang D, Heslop K, Li L, Lemasters J J and Maldonado E N** (2018). Opening of voltage dependent anion channels promotes reactive oxygen species generation, mitochondrial dysfunction and cell death in cancer cells. *Biochem. Pharmacol.*, s. 148: 155–162.
- Dixon S J, Lemberg K M, Lamprecht M R, Skouta R, Zaitsev E M, Gleason C, Patel D N, Bauer A J, Cantley A M, Yang W S, Morrison B and Stockwell B R** (2012). Ferroptosis: An iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, s. 149: 1060–1072.
- Dong-Chen X, Yong C, Yang X, Chen-Yu S and Li-Hua P** (2023). Signaling pathways in Parkinson's disease: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal transduction and targeted therapy*, s. 8(1), 73.
- Fink S L and Cookson B T** (2005). Apoptosis, Pyroptosis, and Necrosis: Mechanistic Description of Dead and Dying Eukaryotic Cells. *Infect Immun*, s. 73(4): 1907–1916.
- Galluzzi L, Vitale I, Abrams J M, Alnemri E S and Baehrecke E H**, (2012). Molecular Definitions Of Cell Death Subroutines: Recommendations Of The Nomenclature Committee On Cell Death. *Cell Death And Differentiation*, s. 19(1), 107–120.
- Golias C H, Charalabopoulos A and Charalabopoulos K** (2004). Cell proliferation and cell cycle control: a mini review. *International journal of clinical practice* 58(12), s. 1134–1141.
- Huang Z, Rui X, Yi C, Chen Y, Chen R, Liang Y, Wang Y, Yao W and Xu X** (2023). Silencing LCN2 suppresses oral squamous cell carcinoma progression by reducing EGFR signal activation and recycling . *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, s. 42(1), 60.
- Huppertz B, Frank H G and Kaufmann P** (1999). The apoptosis cascade; morphological and immunohistochemical methods for its visualization. *Anat. Embryol.*, s. 200: 1-18.
- IARC.** (2023) (t.y.) Global Cancer Observatory, Adres :<https://gco.iarc.fr/> Ziyaret Tarihi: 13.12.2023.
- Jin, Y, Qiu J, Lu X and Li G** (2022). C-MYC inhibited ferroptosis and promoted immune evasion in ovarian cancer cells through NCOA4 mediated ferritin autophagy. *Cells*, s. 11(24), 4127.
- Kaneda K, Kashii S, Kurosawa T, Kaneko S, Akaike A, Honda Y, Minami M and Satoh M** (1999). Apoptotic DNA fragmentation and upregulation of Bax induced by transient ischemia of the rat retina. *Brain Research*, s. 815: 11-20.
- Kerr J F, Wyllie A H and Currie A R** (1972). Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wide-ranging Implications in Tissue Kinetics. *Br J Cancer.*, s. 26(4): 239–257.
- Kierszenbaum A L and Tres L L** (2006). *Histology and Cell Biology*. Baskı No: 4, ISBN: 978-0-323-31330-8, Elsevier Health Sciences, Canada, 733 s.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Kong Y, Akatsuka S, Motooka Y, Zheng H, Cheng Z, Shiraki Y, Mashimo T, Imaoka T and Toyokuni S** (2022). BRCA1 haploinsufficiency promotes chromosomal amplification under Fenton reaction-based carcinogenesis through ferroptosis-resistance. *Redox Biology*, s. 54, 102356.
- Li J, Cao F, Yin H, Huang Z, Lin Z, Mao N, Sun B and Wang G** (2020). Ferroptosis: Past, present and future. *Cell Death Dis.*, s. 11: 88.
- Liang C, Zhang X, Yang M and Dong X** (2019). Recent progress in ferroptosis inducers for cancer therapy. *Advanced materials*, s. 31(51), 1904197.
- Louandre C, Ezzoukhry Z, Godin C, Barbare J C, Maziere J C, Chauffert B and Galmiche A** (2013). Iron-dependent cell death of hepatocellular carcinoma cells exposed to sorafenib. *Int J Cancer*, s. 133: 1732–42.
- Louandre C, Marck I and Bouhlal H** (2015). The retinoblastoma (Rb) protein regulates ferroptosis induced by sorafenib in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett*, s. 356: 971–77.
- Lu B, Chen X B, Ying M D, He Q J, Cao J and Yang B** (2018). The Role of Ferroptosis in Cancer Development and Treatment Response. *Front. Pharmacol.*, s. 8:992.
- Luo T, Wang Y and Wang J** (2022). Ferroptosis assassinates tumor. *Journal of Nanobiotechnology*, s. 20(1), 467.
- Mou Y, Wang J, Wu J, He D, Zhang C, Duan C and Li B** (2019). Ferroptosis, a new form of cell death: opportunities and challenges in cancer. *Journal of hematology & oncology*, s. 12(1), 1-16.
- Nagata S** (1997). Apoptosis by death factor. *Cell*, s. 88: 355-365.
- Öztürk E N Y ve Uyar M** (2021). Globocan 2012 Ve 2018 Verileri Üzerinden Dünya’da, Avrupa’da Ve Türkiye’de En Sık Görülen Beş Kanser Türünün Değerlendirilmesi. *Sakarya University Journal of Holistic Health*.
- Rashed M M and Ragab N M** (2004). The pattern of expression of the apoptotic inducer Fas and the apoptotic inhibitor bcl-2 oncogenes immunohistochemically in bone-marrow invaded by the non-Hodgkin lymphomas. *Turk Journal of Haematology*, s. 5;21(3):141-7.
- Rodencal J, Kim N, Li V L, He A, Lange M, He J, Tarangelo A and Schafer Z T** (2023). A Cell Cycle-Dependent Ferroptosis Sensitivity Switch Governed by EMP2. *bioRxiv*.
- Sato H, Tamba M, Ishii T and Bannai S** (1999). Cloning and Expression of a Plasma Membrane Cystine/Glutamate Exchange Transporter Composed of Two Distinct Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, s. 274:11455–8.
- Shen Z, Song J, Yung B C, Zhou Z, Wu A and Chen X** (2018). Emerging Strategies of Cancer Therapy Based on Ferroptosis. *Advanced Materials*, s. 30(12), 1704007.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Silwal-Pandit L, Langerod A and Borresen-Dale A L** (2017). TP53 Mutations in Breast and Ovarian Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med*, s. 7(1), a026252.
- Sung H, Ferlay J, Siegel R L, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A and Bray F** (2021, Mayıs). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, s. 71(3):209-249.
- Tang D ve Kroemer G** (2020). Ferroptosis. *Current Biology*, s. 30(21): 1292-1297.
- Tao Y, Liu S and Jiang Y** (2017). EGLN1/c-Myc induced lymphoid-specific helicase inhibits ferroptosis through lipid metabolic gene expression changes. . *Theranostics*, s. 7(13), 3293.
- Tomatır A G** (2003). Apoptoz; programlı hücre ölümü. *T. Klin. J. Med. Sci.*, s. 23: 499-508.
- Ursini F, Maiorino M, Valente M, Ferri L and Gregolin C** (1982). Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. *Biochim Biophys Acta.*, s. 710: 197–211. .
- Wei S, Xing J, Chen J, Chen L, Li T, Yu T, Wang H and Yu W** (2024). DCAF13 inhibits the p53 signaling pathway by promoting p53 ubiquitination modification in lung adenocarcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, s. 43(1), 3.
- WHO** (2023, 11 14). *World Health Organization*. World Health Organization: Adres: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1
- Willingham M C** (1999). Cytochemical methods for the detection of apoptosis. *The Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, s. 47 (9): 1101-1109.
- Xie Y, Hou W, Song X, Yu Y, Huang J, Sun X, Kang R and Tang D** (2016). Ferroptosis: process and function. *Cell Death Differ.*, s. 23: 369–79.
- Yang W S, Stockwell B R** (2008). Synthetic lethal screening identifies compounds activating iron-dependent, nonapoptotic cell death. *Chem Biol.*, s. 15: 234–45.
- Yang W S, Stockwell B R** (2014). Regulation of ferroptotic cancer cell death by GPX4. *Cell*, s. 156: 317–31.
- Yao F, Deng Y, Zhao Y, Mei Y, Zhang Y, Liu X, Martinez C, Su X and Rosato R R** (2021). A targetable LIFR– NF-κB– LCN2 axis controls liver tumorigenesis and vulnerability to ferroptosis. *Nature communications*, s. 12(1), 7333.
- Yu H, Guo P, Wang Y and Chen G** (2017). Ferroptosis, a new form of cell death, and its relationships with tumourous diseases. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, s. 648-657.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Zhao Y, Wang Y, Miao Z, Liu Y and Yang Q** (2023). c-Myc protects hepatocellular carcinoma cell from ferroptosis induced by glutamine deprivation via upregulating GOT1 and Nrf2. *Molecular Biology Reports*, s. 50(8), 6627-6641.
- Zhou Y, Shen Y, Chen C, Sui X, Yang J, Wang L and Zhou J** (2019). The crosstalk between autophagy and ferroptosis: What can we learn to target drug resistance in cancer? *Cancer Biol. Med.*, s. 16: 630–646.
- Zhu R, Gao C, Feng Q, Guan H, Wu J, Samant H, Yang F and Wang X** (2022). Ferroptosis-related genes with post-transcriptional regulation mechanisms in hepatocellular carcinoma determined by bioinformatics and experimental validation. *Annals of Translational Medicine*, s. 10(24).



ÖZGEÇMİŞ

Mehmet Gökhan ERTUĞRUL Zonguldak Ereğli’de doğmuş, ilköğretim ve lise eğitimini burda tamamlamıştır. Lise eğitimini Zonguldak Ereğli Lisesi’nde, Lisans eğitimini ise 2014 yılında Uludağ Üniversitesi’nde tamamlamıştır. Sekiz yıldır Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı olarak Biyoloji Öğretmenliği yapmaktadır. 2016-2020 yılları arasında Kahramanmaraş Hartlap Çok Programlı Anadolu Lisesi’nde çalışmış, 2020 yılından beri Zonguldak Ereğli Mehmet Ali ve Kadri Yılmaz Anadolu Lisesi’nde görevine devam etmektedir.