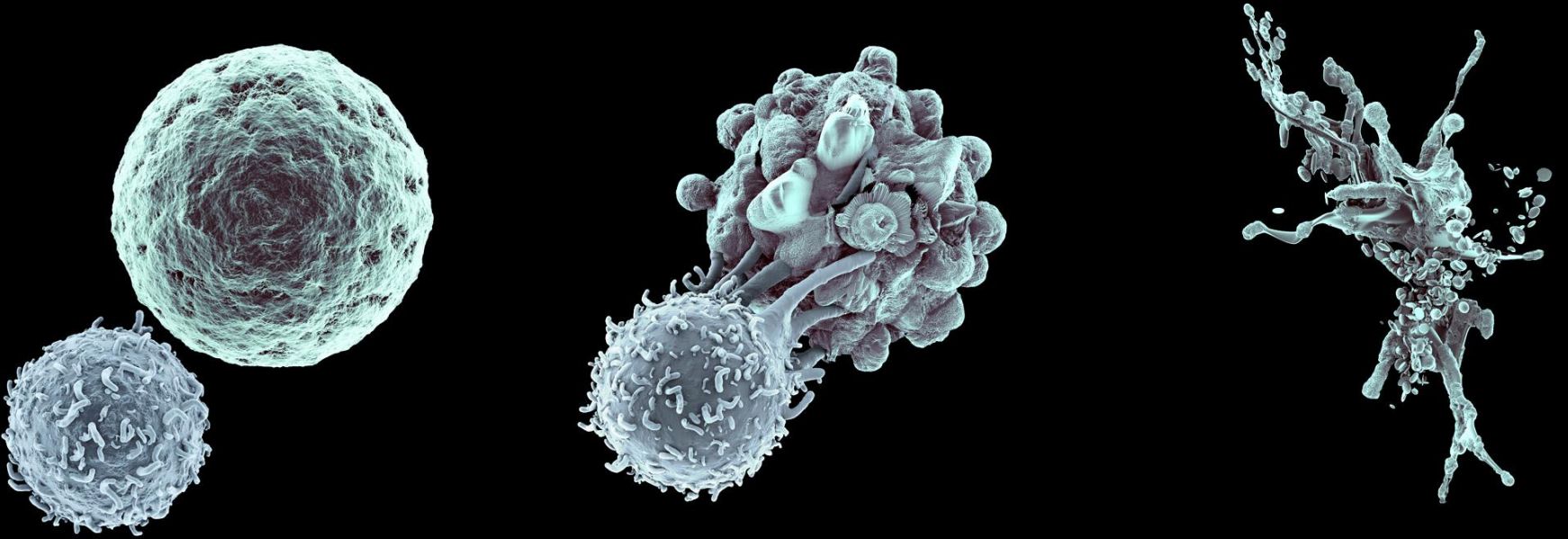


# Hücre ölümü ve kanser



Devrim GÖZÜAÇIK, MD PhD

Biyoloji Bilimleri ve Biyomühendislik Programı

Sabancı Üniversitesi, Tuzla, İstanbul

# Programlı hücre ölümü ya da Hücreysel intihar

A) Neden intihar? Yoksa cinayet mi?

B) Neden programlı? Programsız hücre ölümü var mı?

Genetik olarak kontrollü

Vakti planlı

Yeri planlı

# Hücre ölümü yaşamı nasıl şekillendiriyor?

## a Organ şekillenmesi

Chick heart<sup>100</sup>  
Mouse digits<sup>20,23</sup>  
Mouse palate<sup>21,22</sup>  
Mouse retina<sup>109</sup>

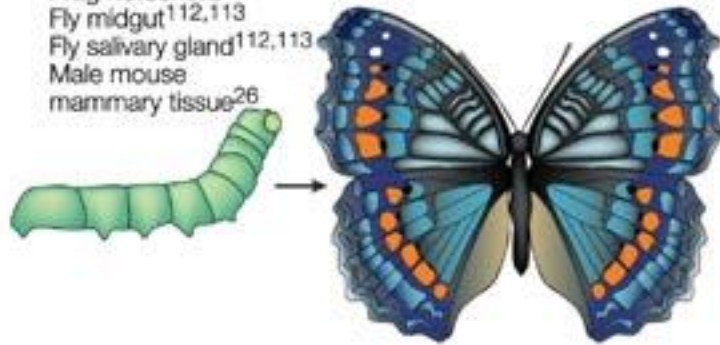
Parmak arası perde



## b Başkalaşım - değişim

Frog tail<sup>110</sup>  
Frog intestine<sup>24</sup>  
Frog notochord<sup>111</sup>  
Fly midgut<sup>112,113</sup>  
Fly salivary gland<sup>112,113</sup>  
Male mouse mammary tissue<sup>26</sup>

Böcek başkalaşımı



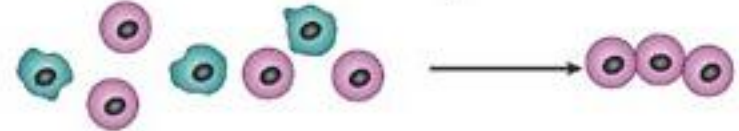
## c Hücre sayısı kontrolü

Chick motor neurons<sup>30</sup>  
Worm neurons<sup>114</sup>  
Fly eye pigment cells<sup>115</sup>  
Fly glia<sup>26</sup>  
Fly neurons<sup>61</sup>  
Rat glia<sup>27</sup>  
Mouse muscles<sup>116</sup>

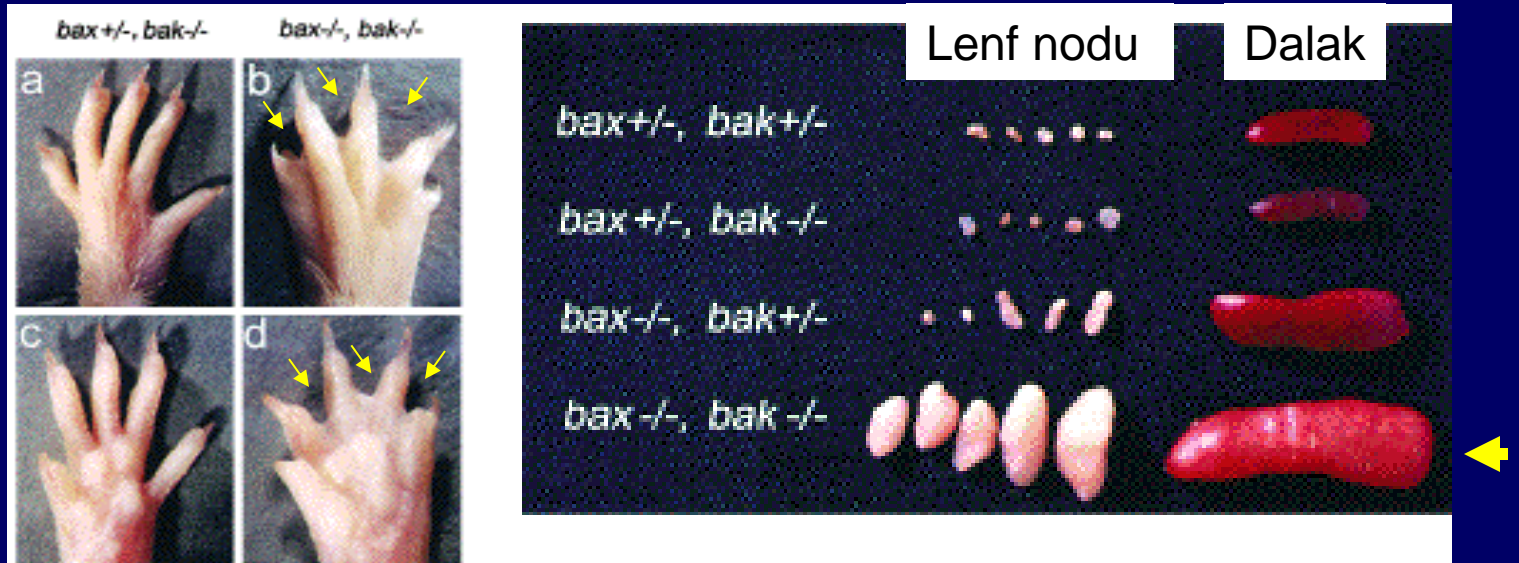


## d Anormal hücrelerin imhası

Fly cells harbouring DNA damage<sup>117</sup>  
Mouse cells harbouring DNA damage<sup>118</sup>



# Hücre ölüm bozukluğu hücre sayısında artışa yol açıyor

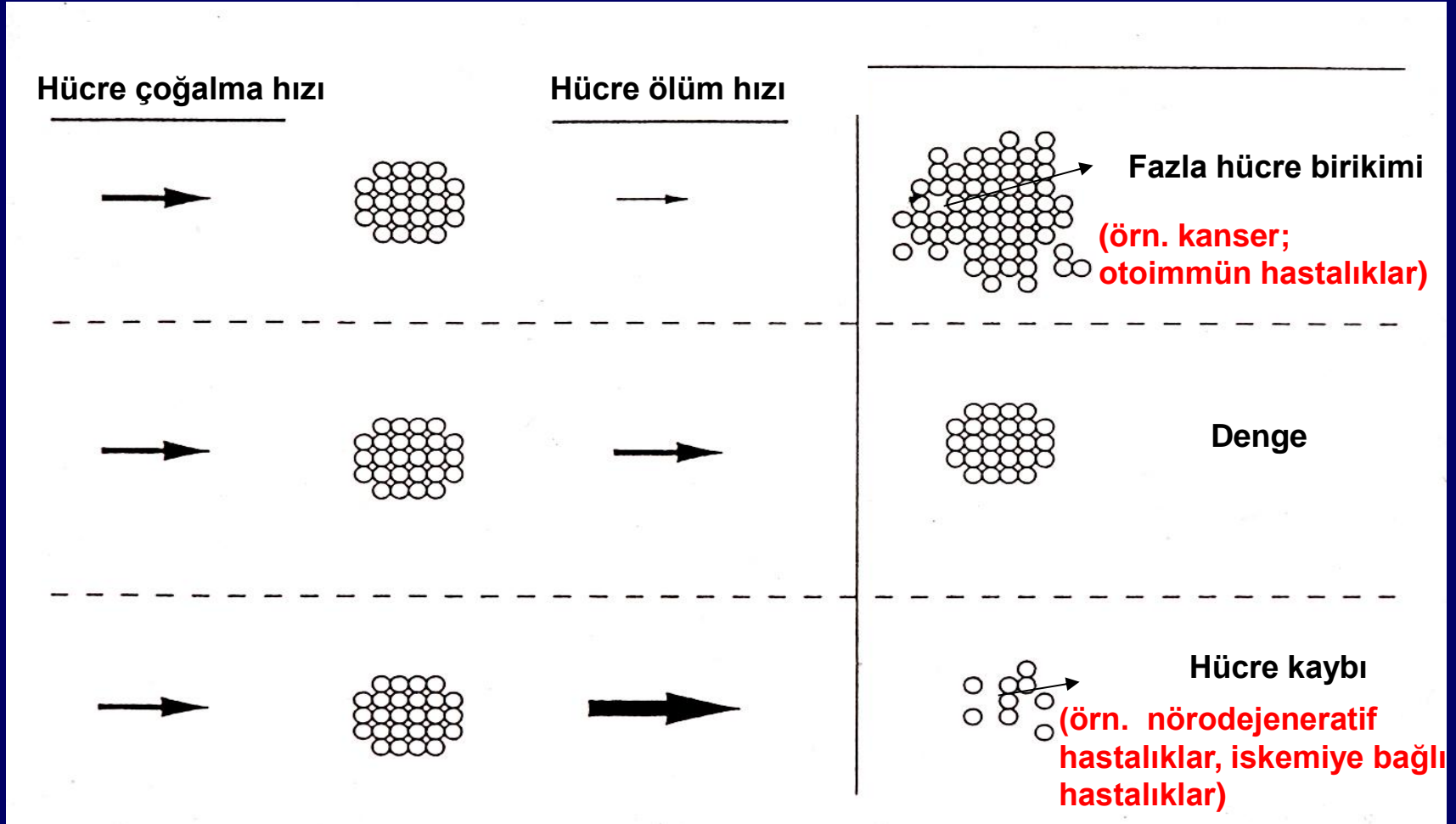


**Bax/Bak KO**



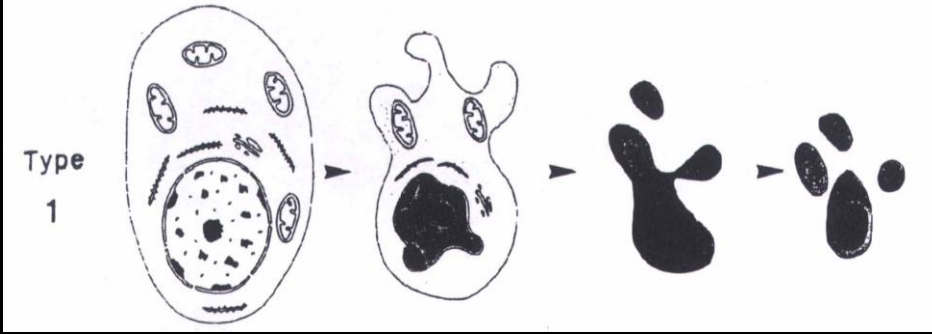
**Caspase-9 KO**

# Hücre ölüm bozuklukları hastalıklara yol açabiliyor

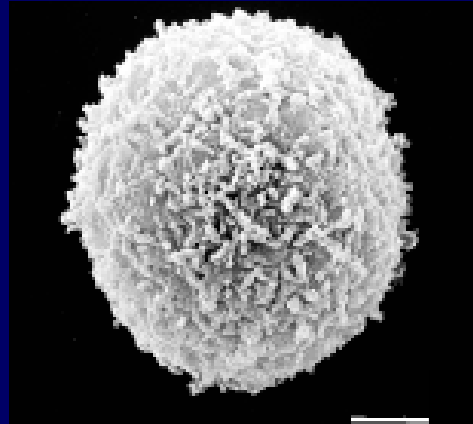
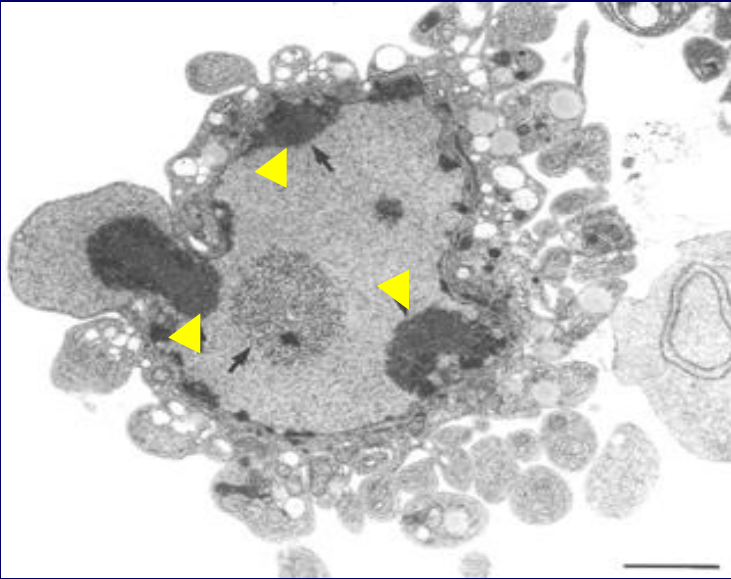


# Klasik programlı hücre ölüm mekanizması

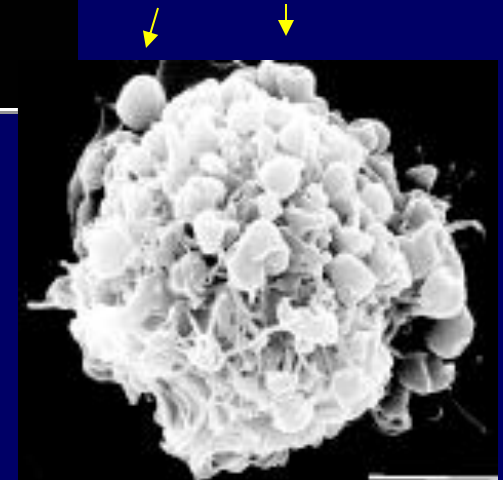
## Apoptoz



- Kromatin yoğunlaşması
- Kaspaz aktivasyonu
- Apoptotik cisimciklere parçalanma
- Fagositoz

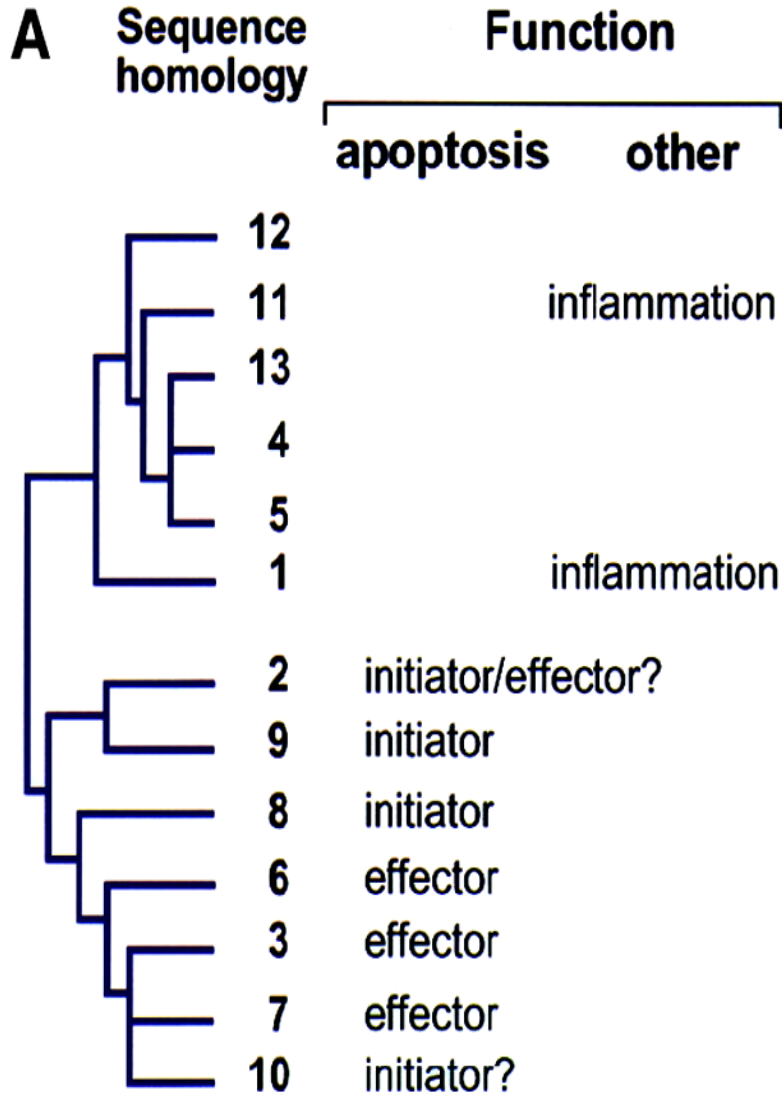


Baloncuklanma





# Kaspazlar- Apoptozun uygulayıcıları



caspase(cysteinyI aspartate specific proteases)

Evrimsel olarak korunmuş homologlar (Casp 14)

İnaktif zimogenler

**Kaspazlar:**

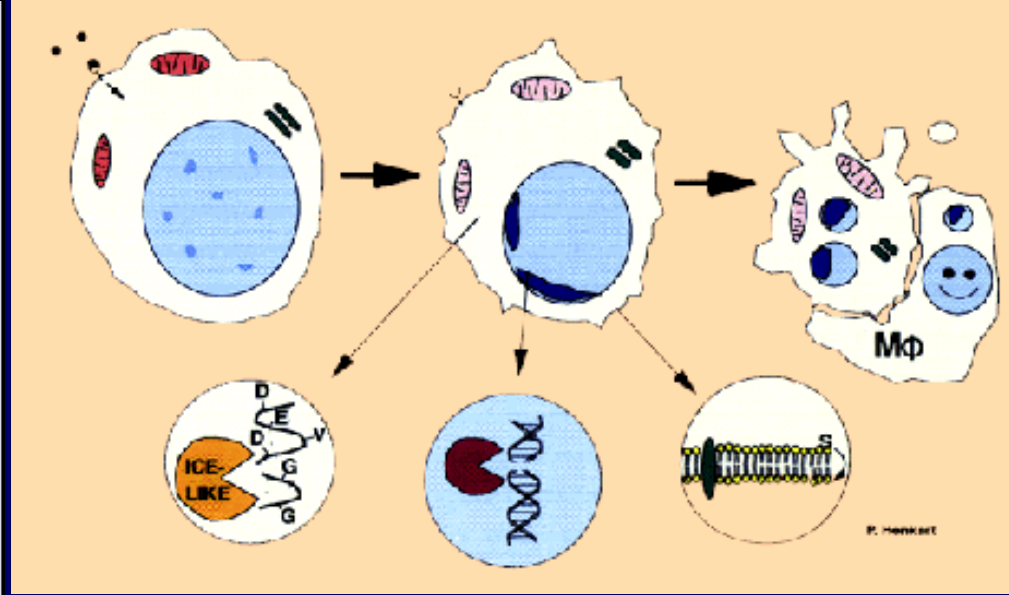
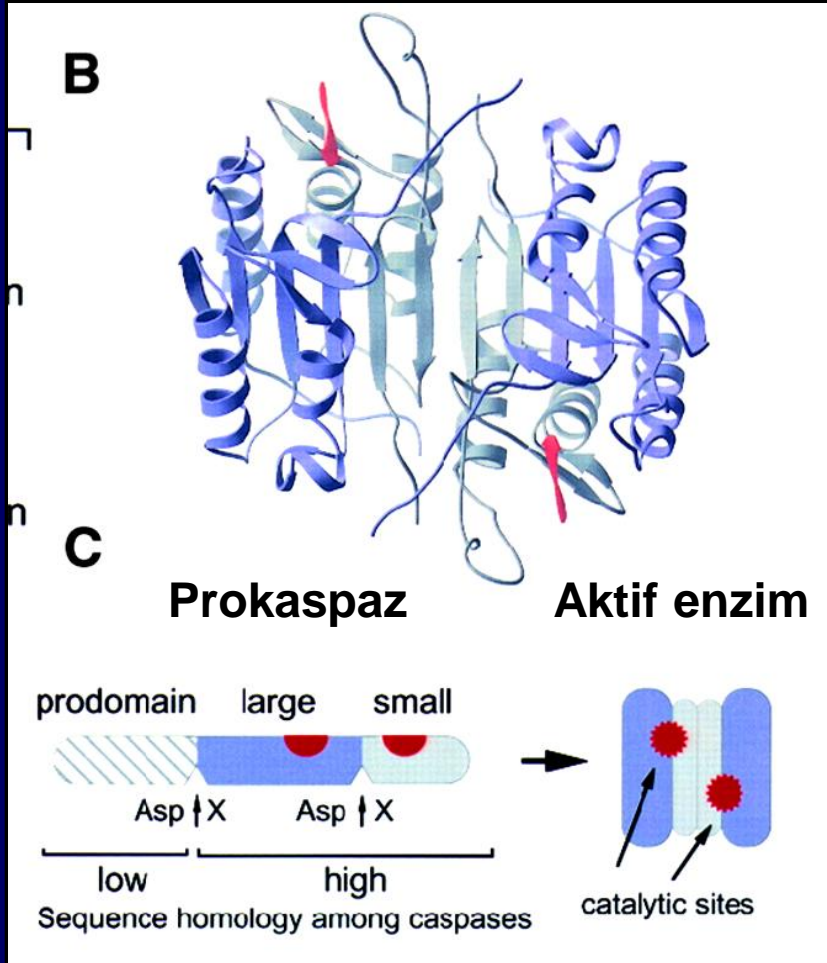
**1) Uyarıcı**

**Kaspaz 2,8,9,10 (4,5)**

**2) Uygulayıcı**

**Kaspaz 3,6,7**

# Kaspazların yapısı ve hedefleri

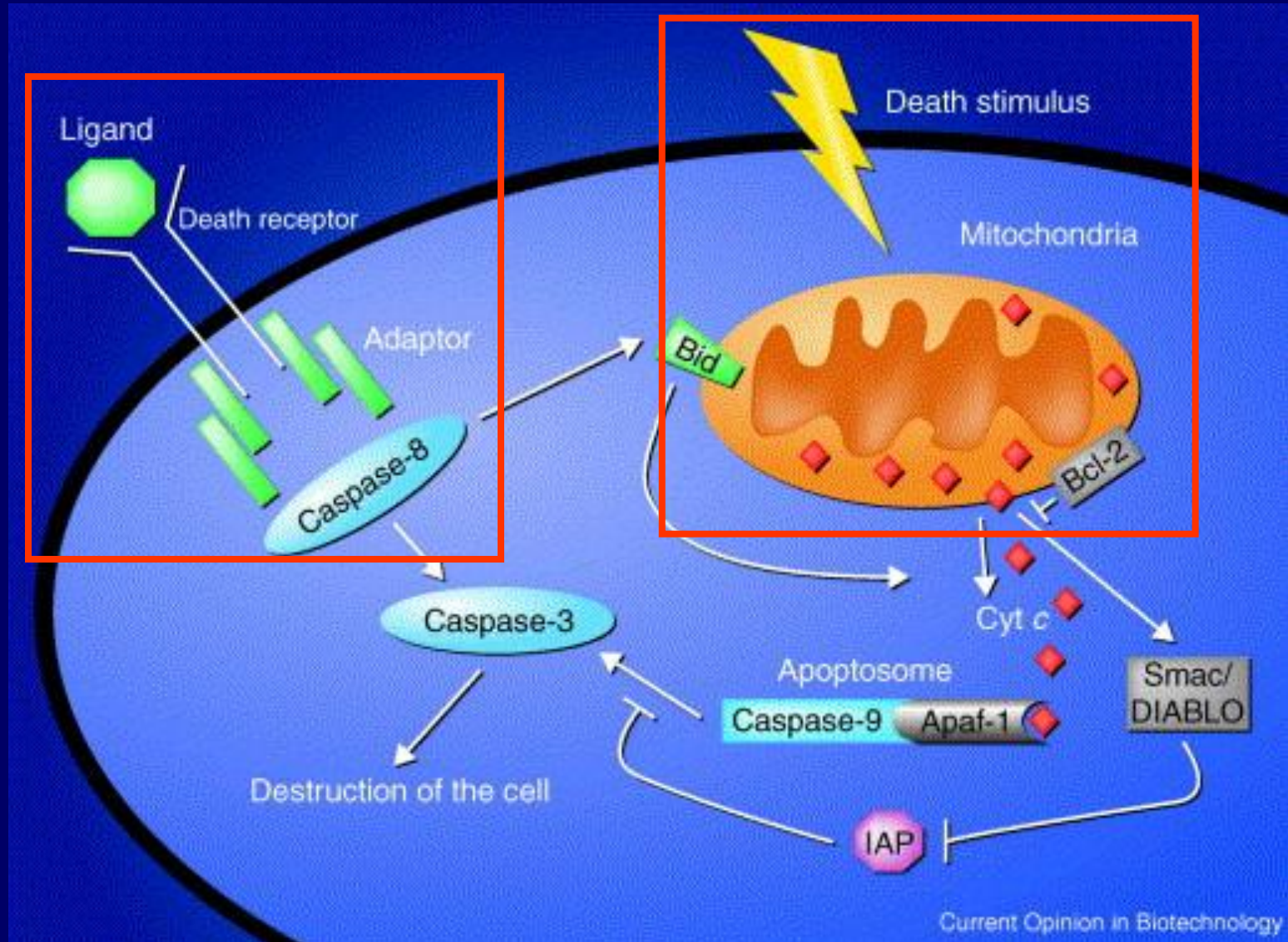


- Ölümü önleyici proteinler : Bcl-2, Akt
- Hücre siklus proteinleri: Cyclin A, Cdc 27, Topol
- Büyümeyi düzenleyen proteinler: Raf, Ras GAP, Calpastatin
- Hücrenin yapısal proteinleri: Lamin, Aktin, Keratin, Vimentin
- DNazları baskılayan proteinler: ICAD

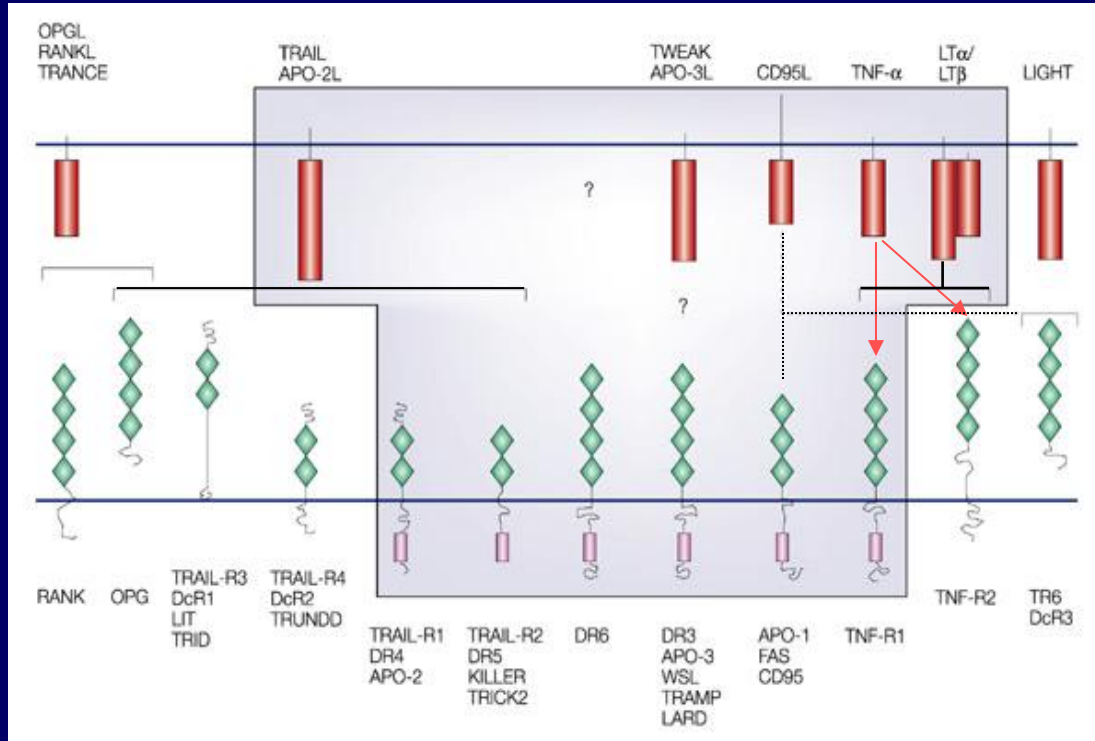


# Temel apoptoz yolakları

## Ölüm almaçları ya da mitokondri yolağı



# Ölüm almaçları ve uyarılar



**TNF $\alpha$  :**  
(ve çözümlü molekül)

**TNF-R1 (ana R)**  
**TNF-R2**

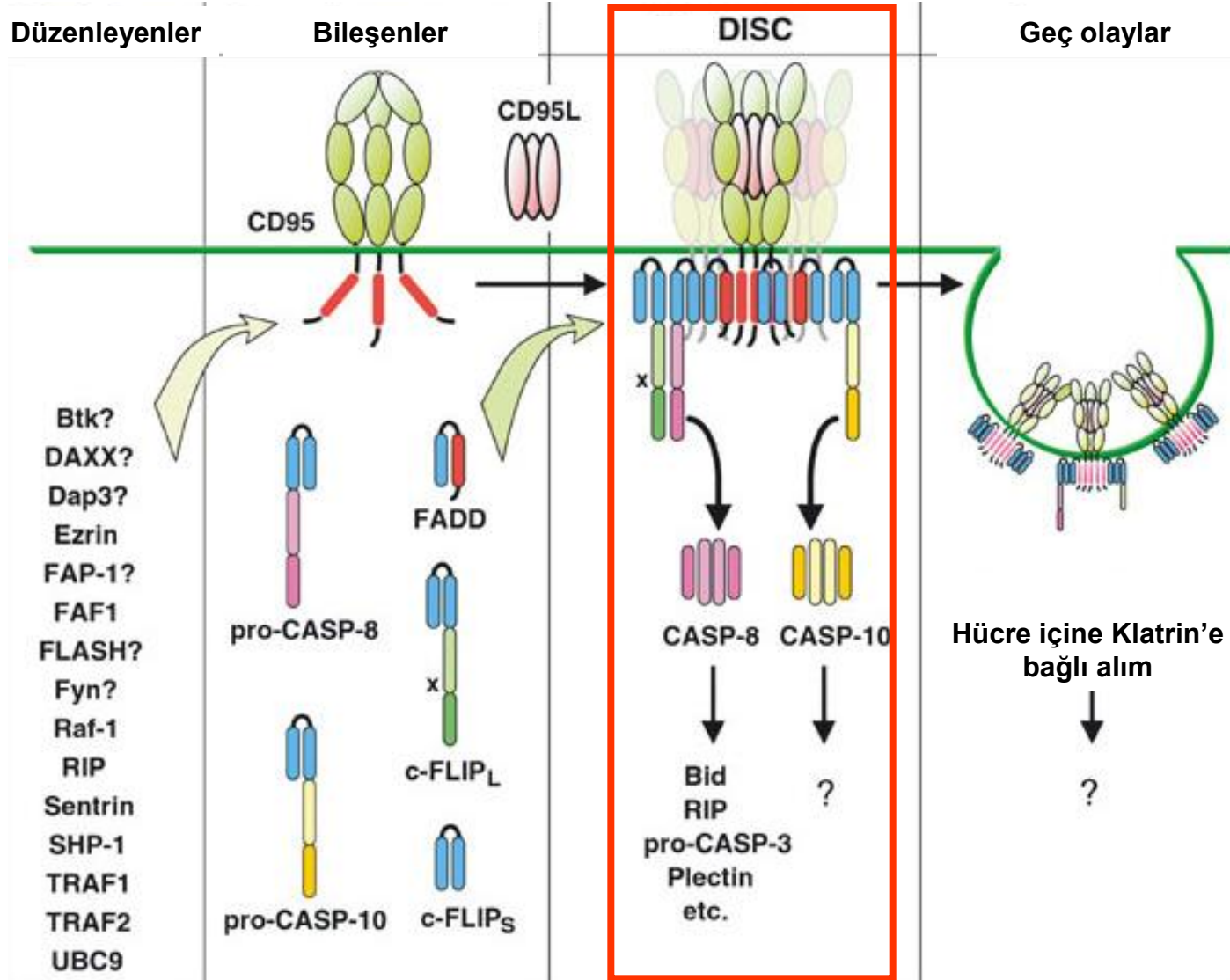
**CD95L :**  
(FasL/Apo-1L)

**CD95 (Fas/Apo-1)**  
**DcR3/TR6**

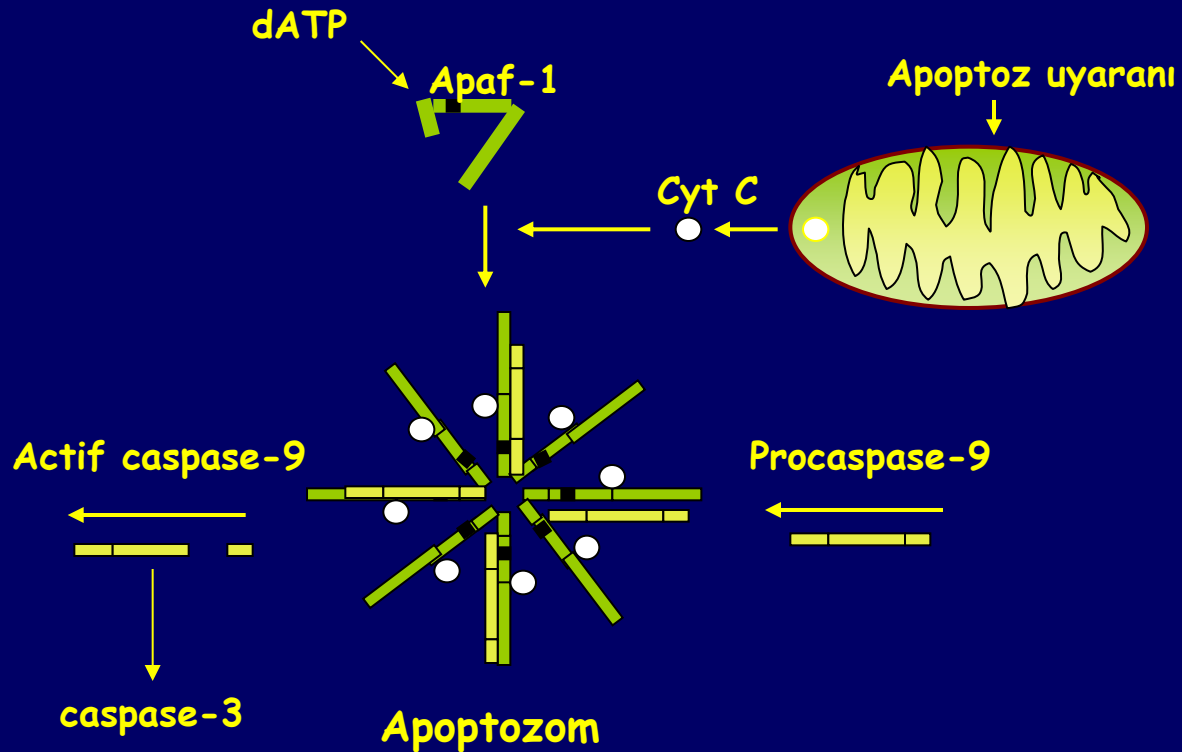
**TRAIL :**

**DR4 (TRAIL-R1)**  
**DR5 (TRAIL-R2)**  
**OPG**  
**DcR1 and DcR2**

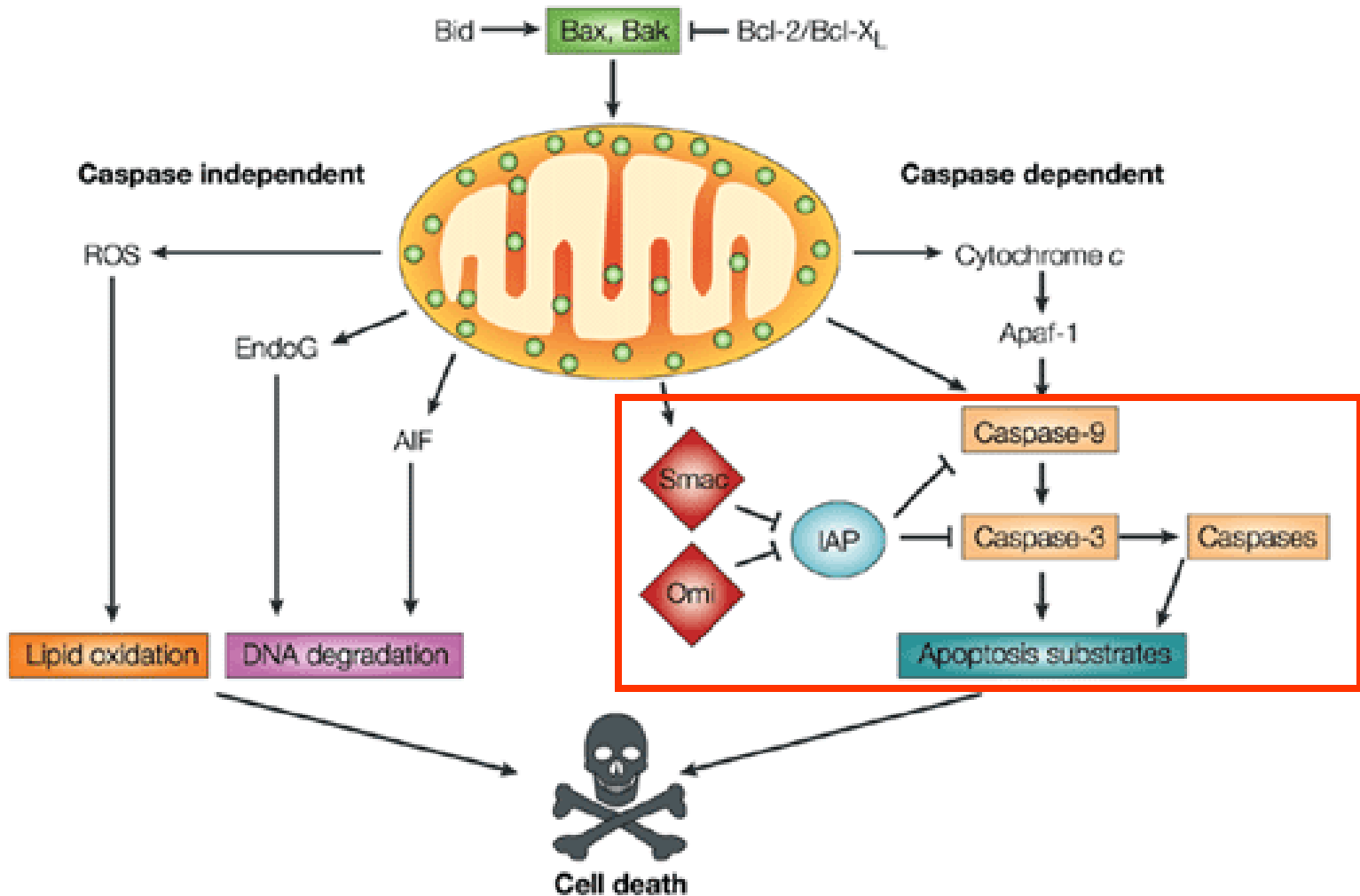
# Ölüm almaçlarından hücre içine sinyaller



# Mitokondriye bağılı apoptoz yolağı

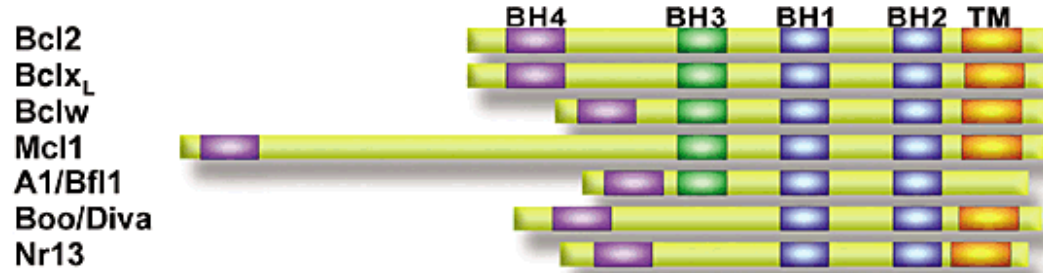


# Apoptoz sırasında mitokondriden salınan diğer moleküller



# Bcl-2 protein ailesi

## anti-apoptotik



## pro-apoptotik

### Çok bölge



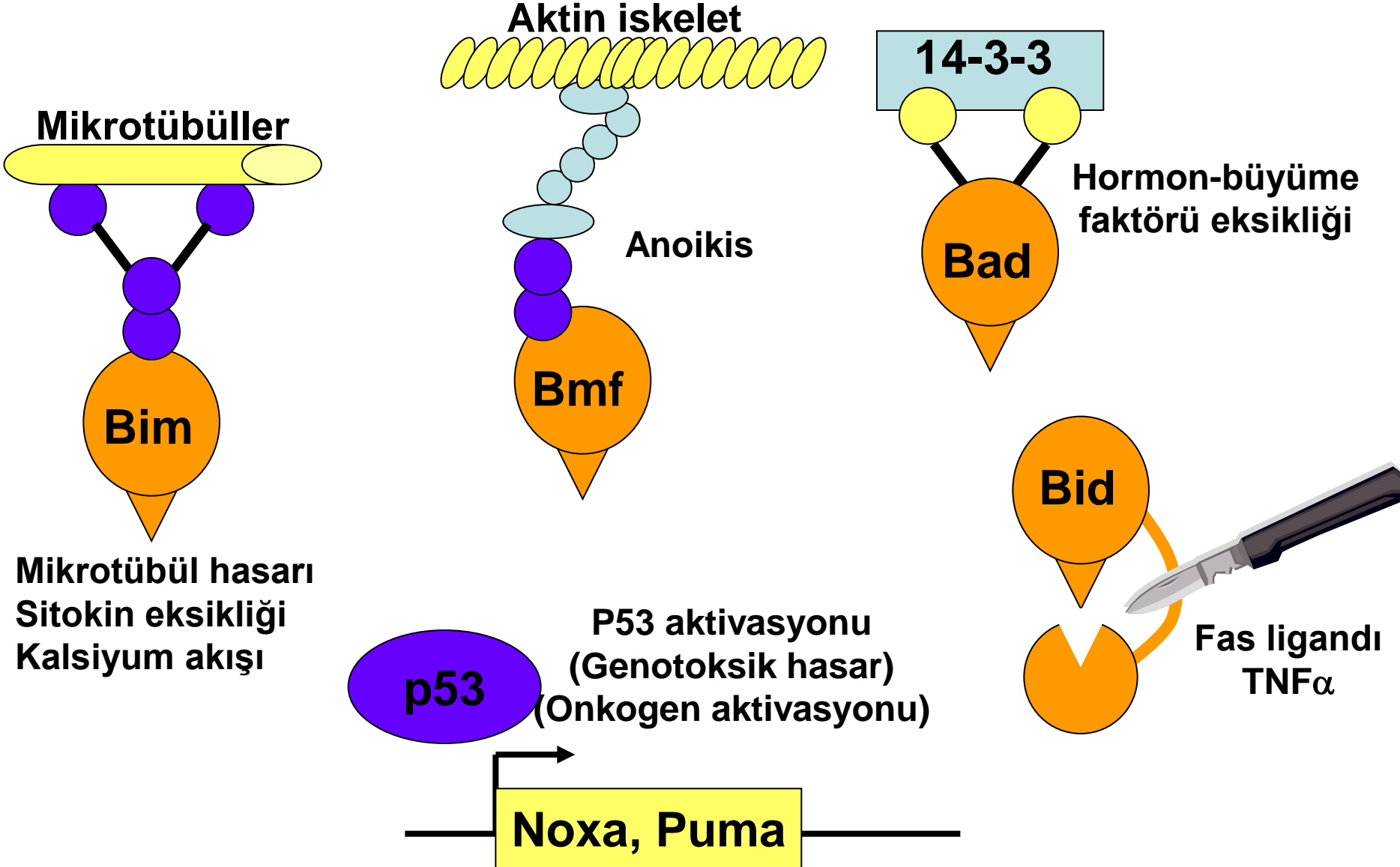
### Sadece BH3 bölgesi



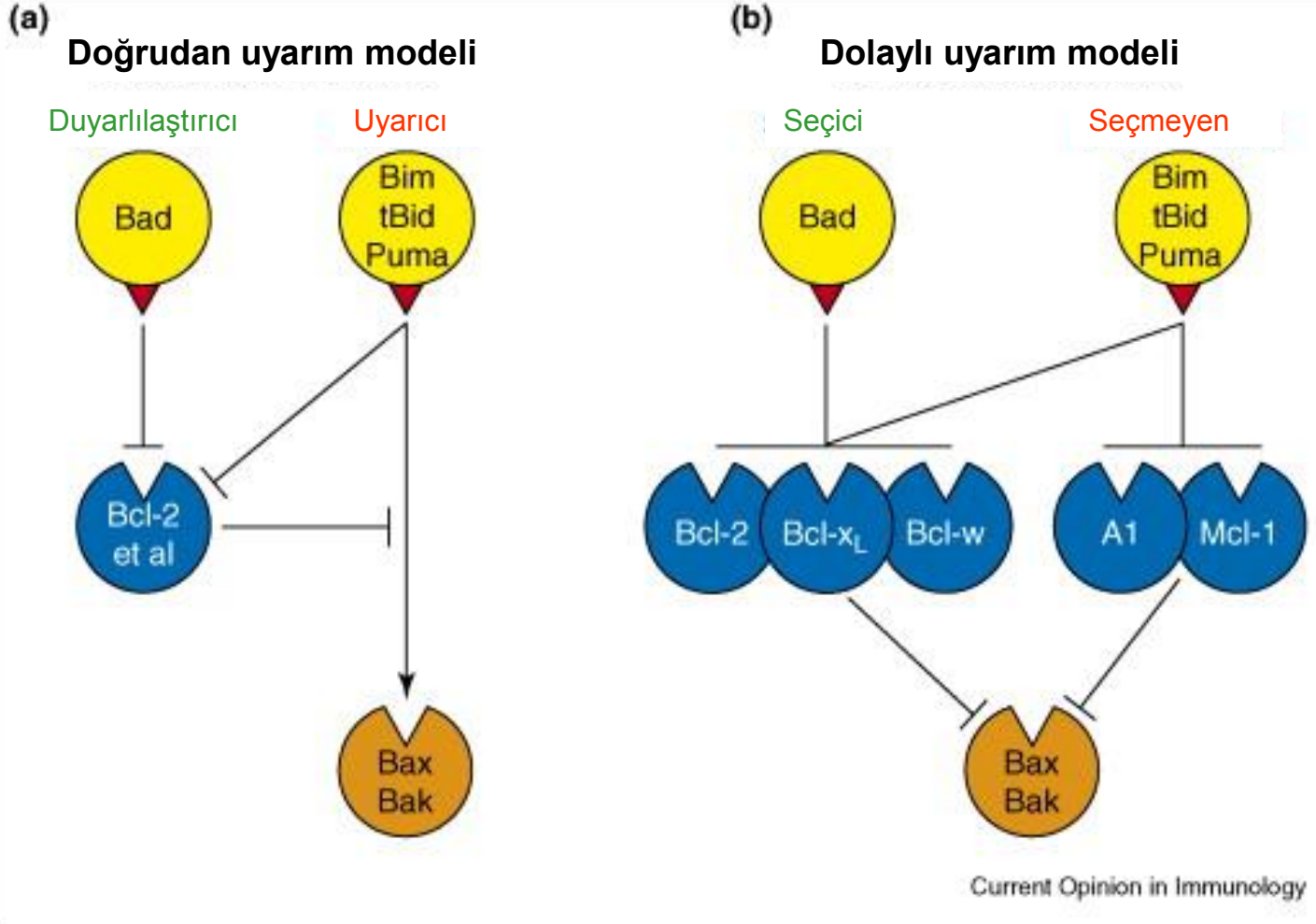


# Sadece BH3 bölgesi içeren Bcl-2 proteinleri

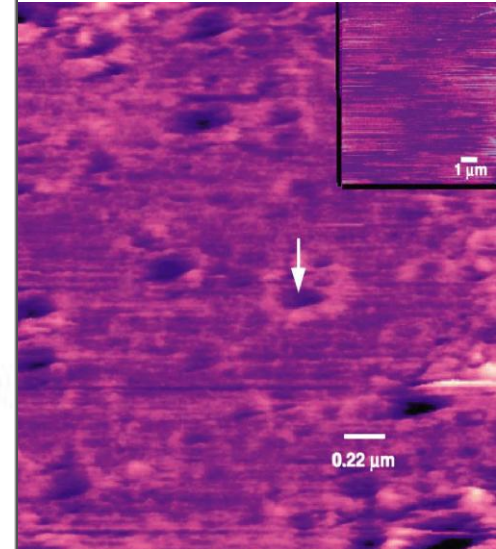
## Hücre içi stres bekçileri



# Anti-apoptotik ve proapoptotik Bcl-2 proteinleri ve mitokondri geçirgenlik gözeneği



## AFM analizi

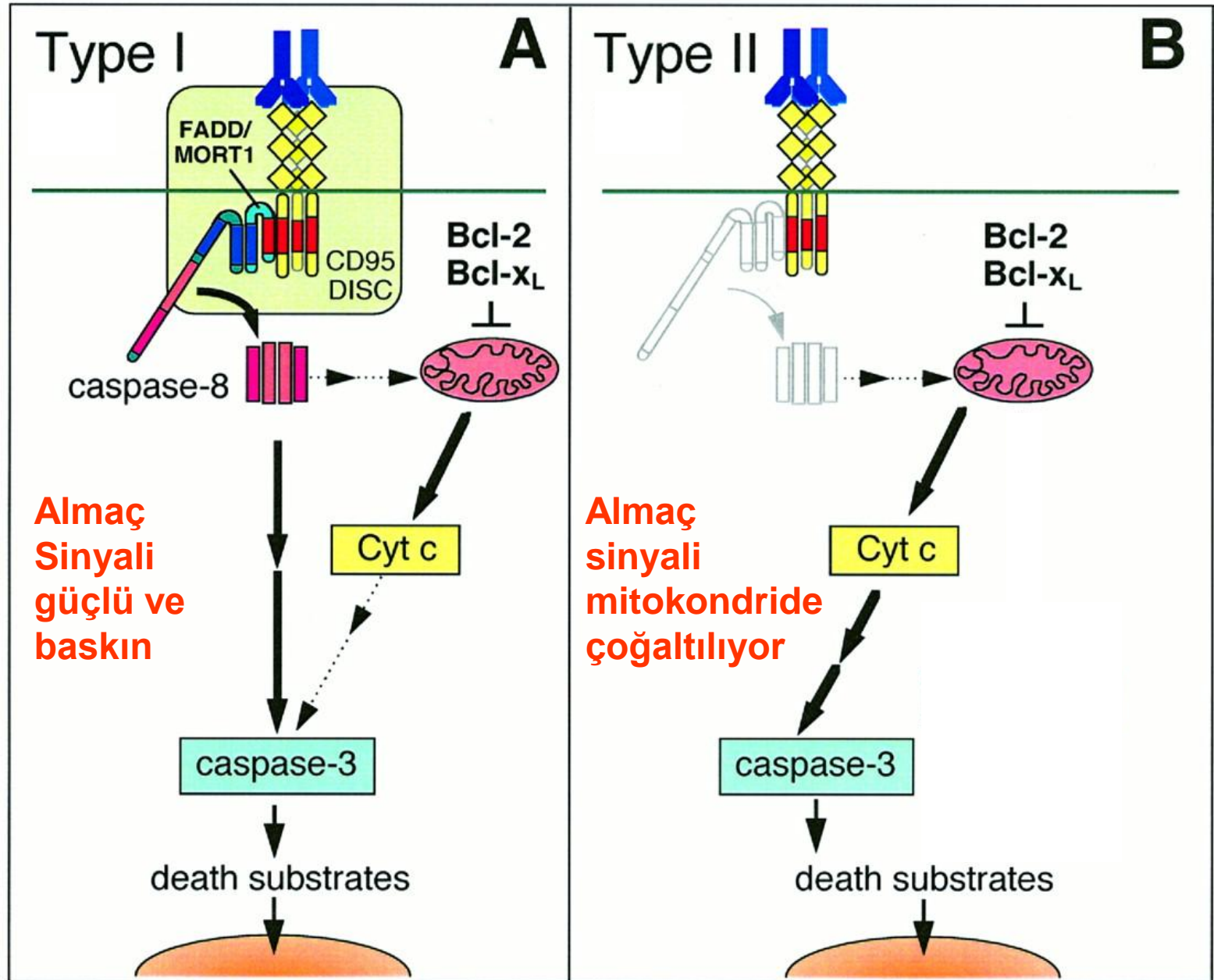


## Mitokondri dış zarında Bax/Bak gözenekleri

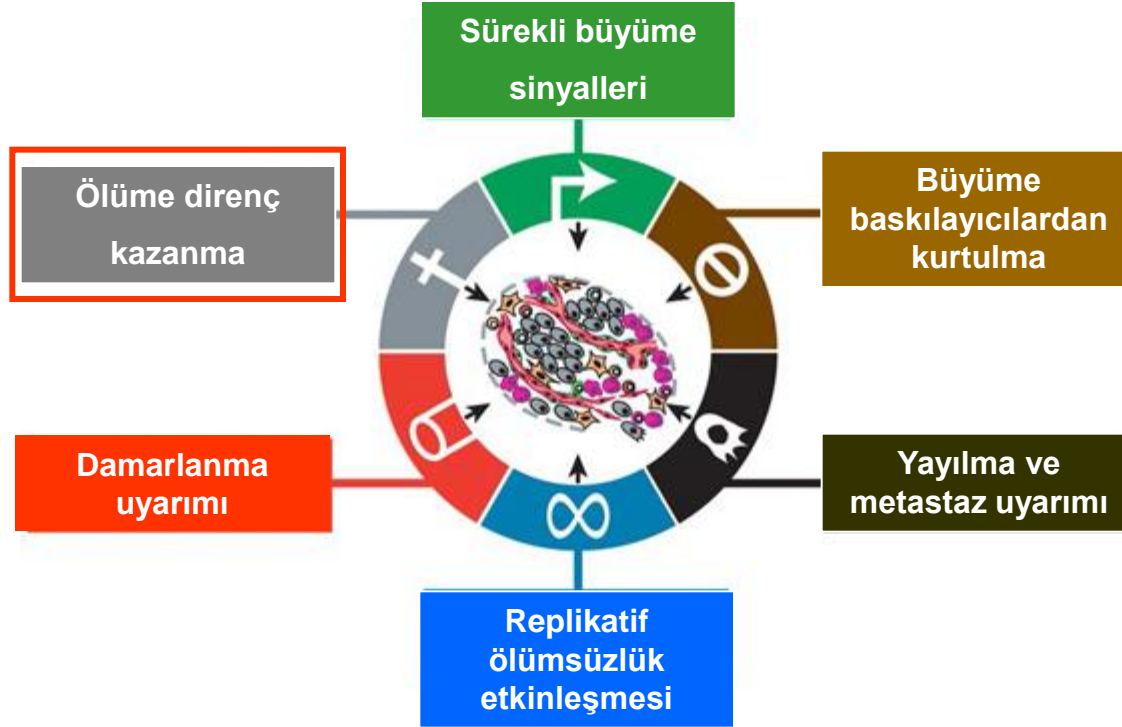
- Duyarlılaştırıcı BH3 proteinleri uyarıcıların anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerinden ayrılmasına yol açar.
- Uyarıcı BH3 proteinleri Bax/Bak'ın Gözenek oluşturmasını doğrudan uyarır.

- Seçici ya da seçmeyen BH3 proteinleri sadece anti-apoptotik Bcl-2 proteinlerine bağlanır.
- Bcl-2 proteinlerinden serbest kalan Bax/Bak gözenek oluşturabilir.

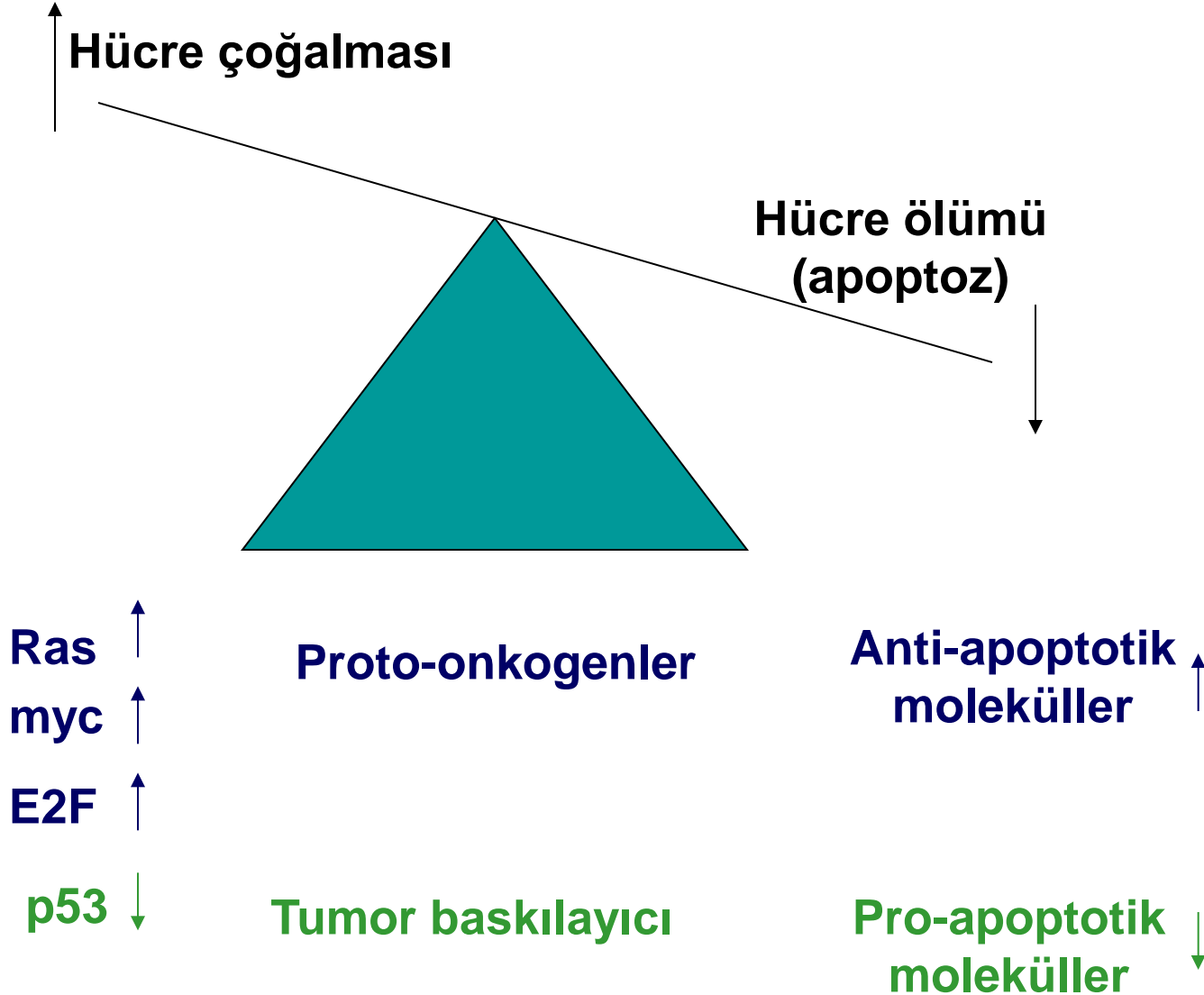
# Baskın ölüm uyarım yollarına göre hücreler



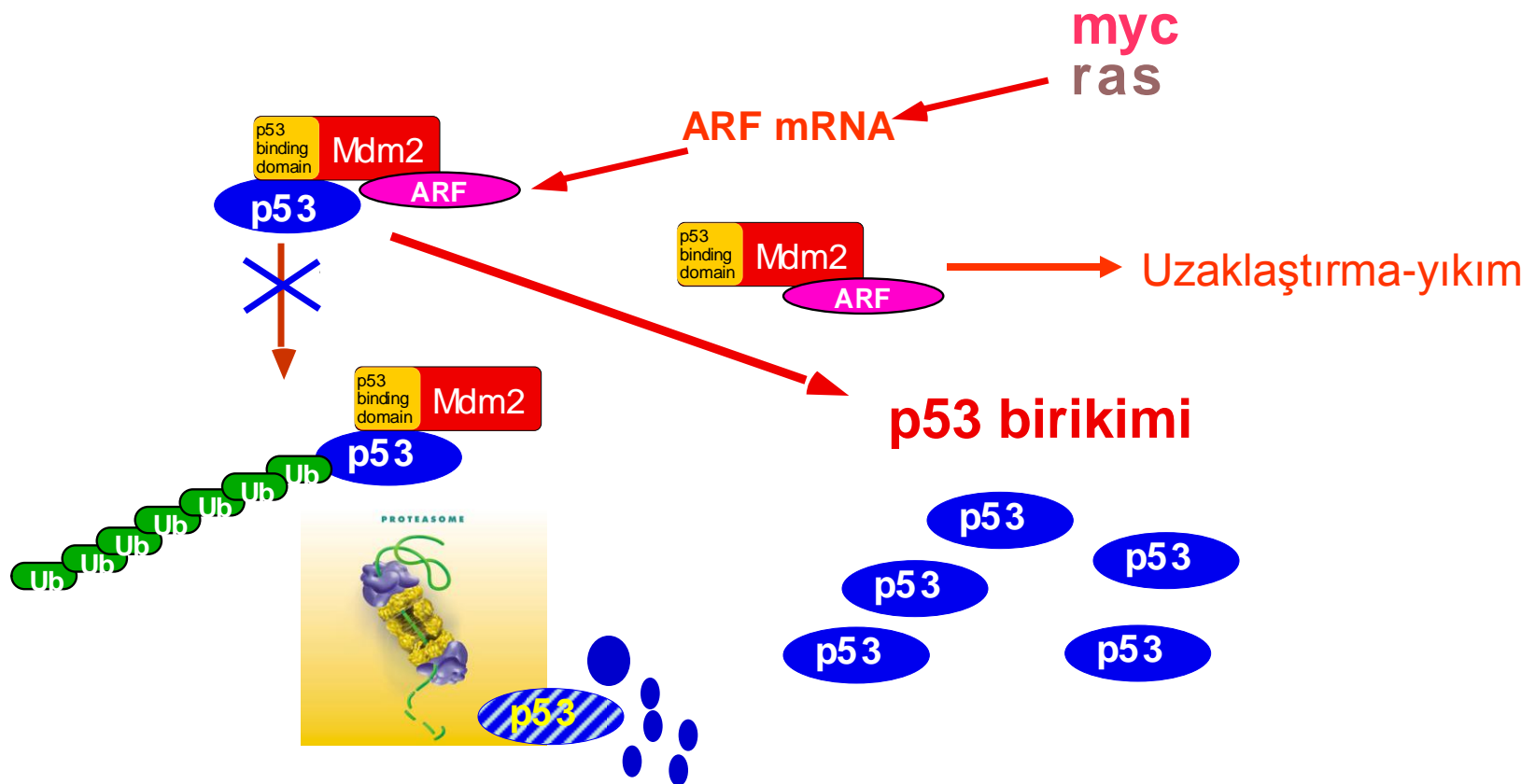
# Kanserin alametleri



# Kanserde hücre çoğalma-ölüm dengesinin bozulması

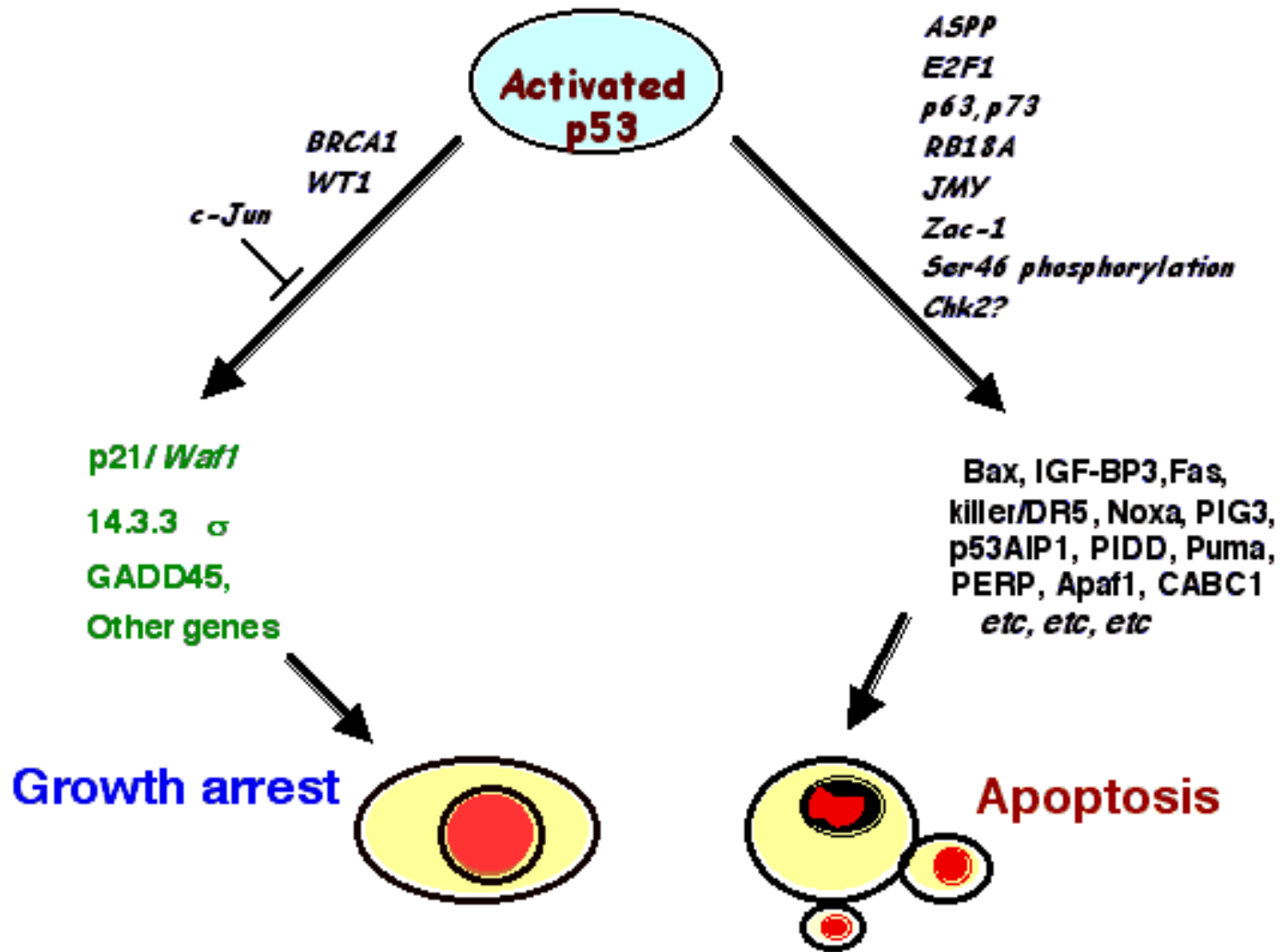


# Onkogen aktivasyonu sonucu uyarılan hücre ölüm yolağı: p53 - ARF yolağı





# p53 aktivasyonu sonrası ölüm-kalım meseleri



# Kanserde p53 işlev kaybı mekanizmaları

## İşlev kaybı nedeni

- DNA bağlayıcı bölge mütasyonları
- C-ucu küntleşmesi  
(nonsense veya kayma mutasyonları)
- P53 gen silinmesi
- Mdm2 ifade artışı
- ARF ifade kaybı
- p53 uyarıcıların mütasyonu  
duyarsızlaşma  
(e.g. Chk2)

## p53'e etkisi

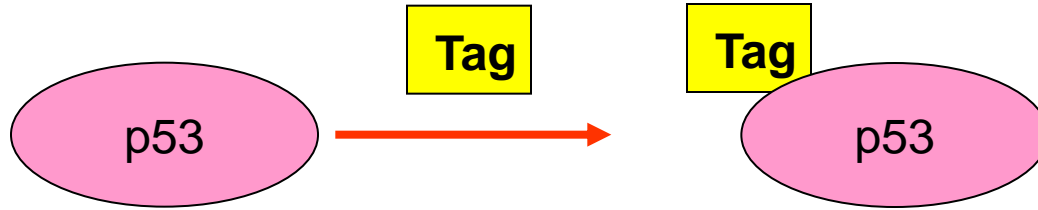
- DNA'ya bağlanamaz
- Aktif tetramer oluşturamaz
- Protein ifade kaybı
- İnaktivasyon ve yıkım
- Yıkımında artış
- stres tarafından aktivasyona

# Virüs proteinleri tarafından p53 inaktivasyonu

Virüsler kanserlerin % 30-40'ında rol oynuyor

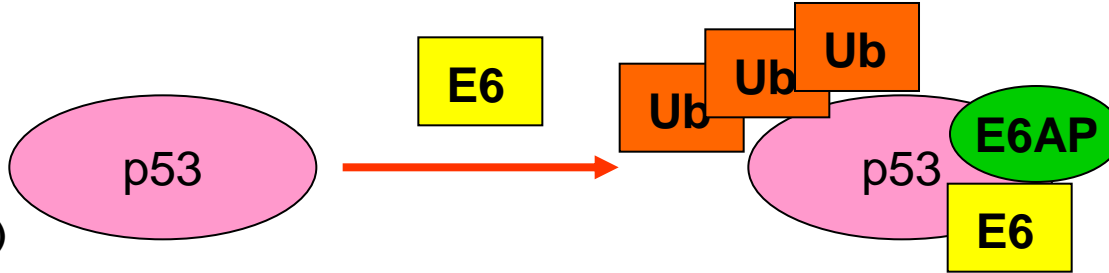
Virus:

**SV40**



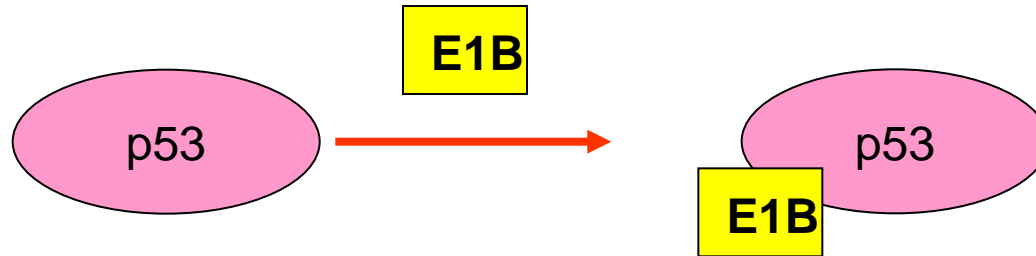
Tag: p53'ü inaktif halde stabilize eder

**HPV**  
(Human PapillomaVirus)



E6AP: E3 Ub ligaz p53 yıkımına yol açar

**Adeno**



E1B: p53 inaktivasyonu, p53 transkripsiyon uyarıcıdan baskılayıcıya dönüştürür.

# Virüs proteinleri tarafından diğer apoptoz proteinlerinin inaktivasyonu

## Protein ve virüs

p35 (Baculovirüs)

BHRF1 (Ebstein-Barr Virüsü)

LMW5 HL (African Swine Fever Virus)

p19 (E1B) (Adenovirüs)

Ebstein Barr Virüs BHRF1 proteini

Ebstein Barr Virüs LMP-1 proteini

## Hedef apoptoz proteini

Bcl-2

Bcl-XL

Mcl-1

Kaspaz

inhibisyonu

# Diğer hücre ölüm proteinlerinde kanserle bağlantılı değişiklikler

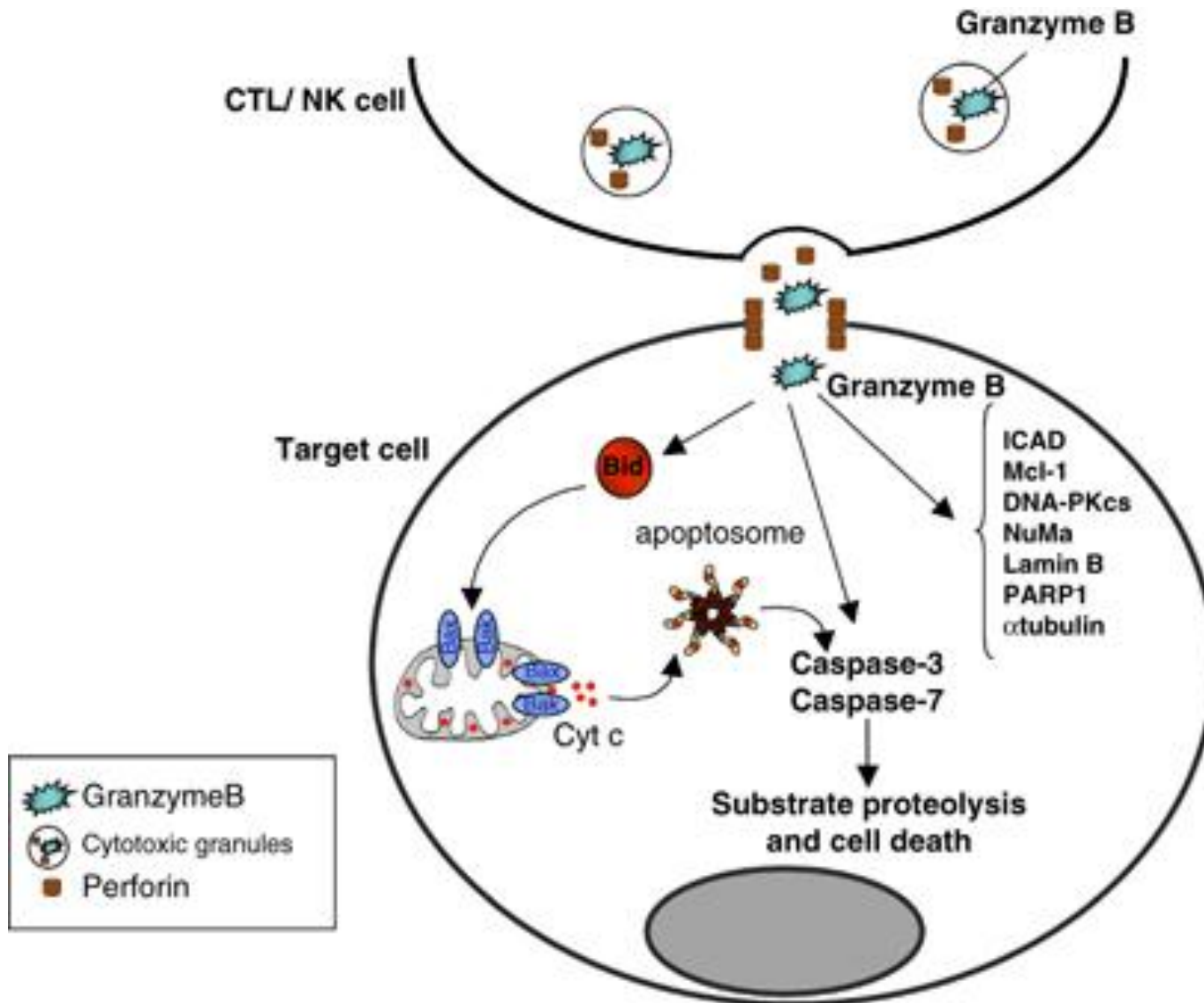
## Apoptoz anormallięi

TNFR1 metilasyonu  
TRAIL-R1 baskılanması  
FLIP artışı  
Kaspaz 8 promoter metilasyonu  
Kaspaz 8 baskılanması  
Survivin artış  
Bcl-2 artışı  
IAP-1 gen çoęalması  
APAF1 gen metilasyonu  
Bax mütasyonu  
PTEN inaktivasyonu  
AKT/PKB aktivasyonu

## Tümör tipi

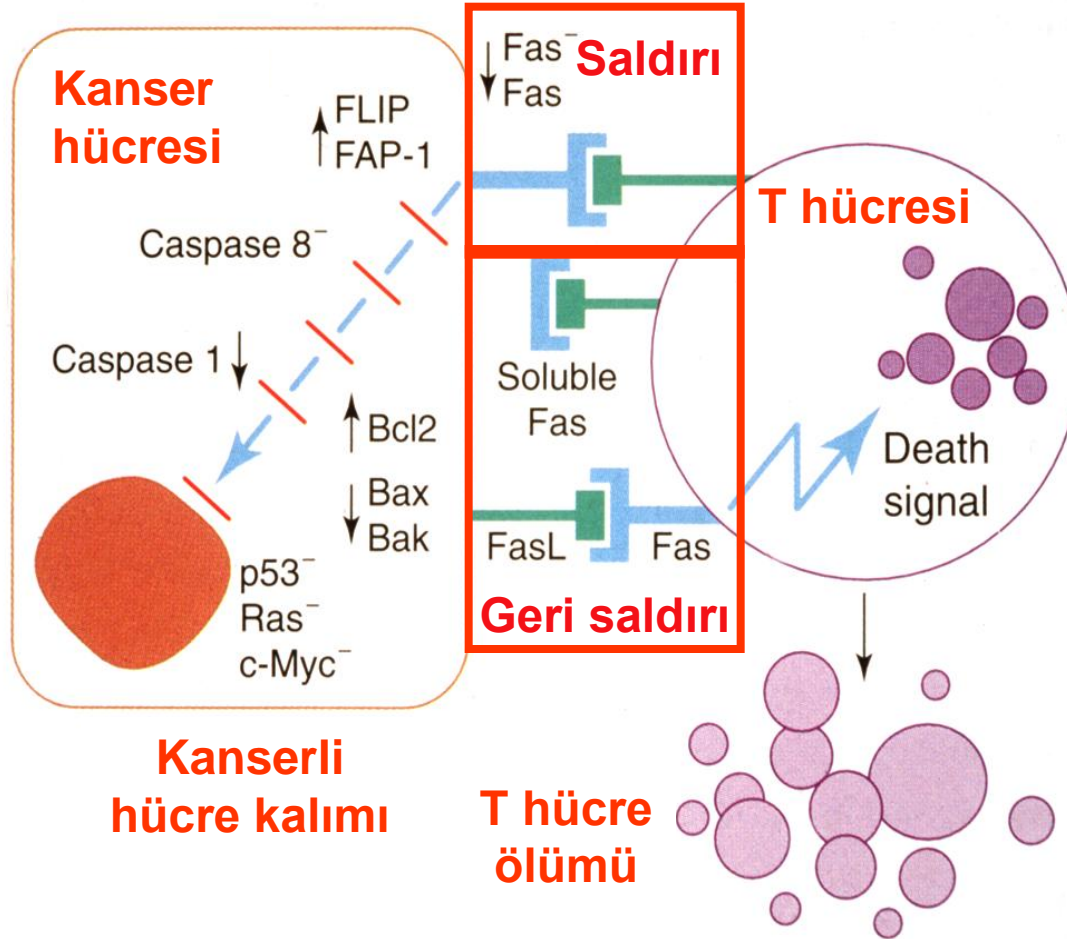
Wilms tümörü  
SCLC  
Melanoma ve bazı diğer tümörler  
SCLC, pediatrik tümörler  
Meme kanseri  
Mesotelyom, melanom, karsinom  
Birçok kanser türü  
Esofagus ve serviks kanseri  
Melanomlar  
Kolon kanseri  
Glioblastoma, prostat ca, endometrium ca  
Birçok kanser türü

# Bağışıklık sisteminin tümöre saldırısı - Attack





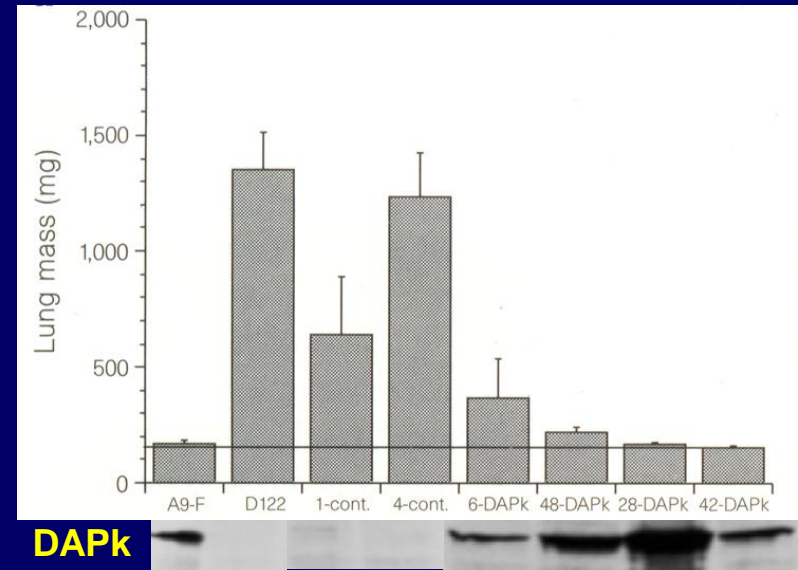
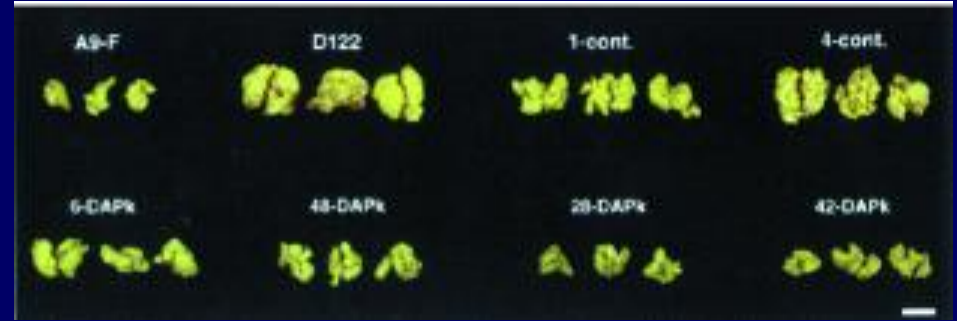
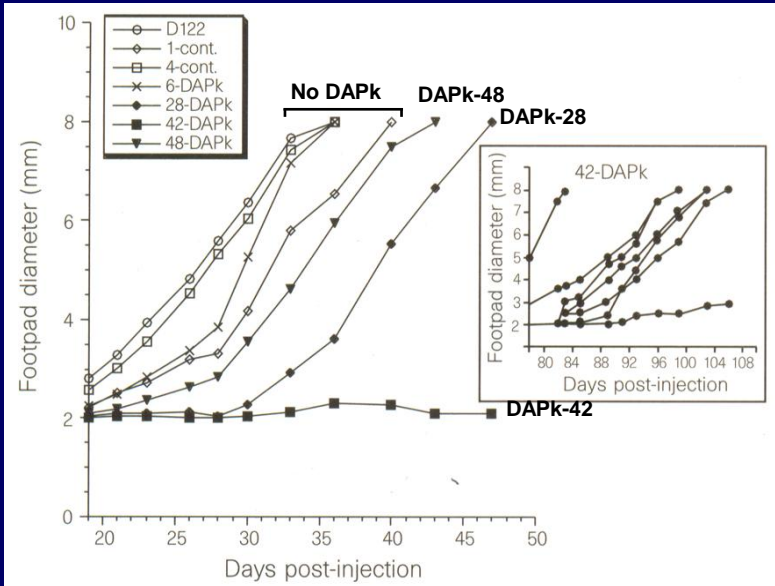
# Bağıışıklık sistemine tümör geri saldırısı - Counterattack



# Hücre ölümüne direnç metastaza katkıda bulunuyor

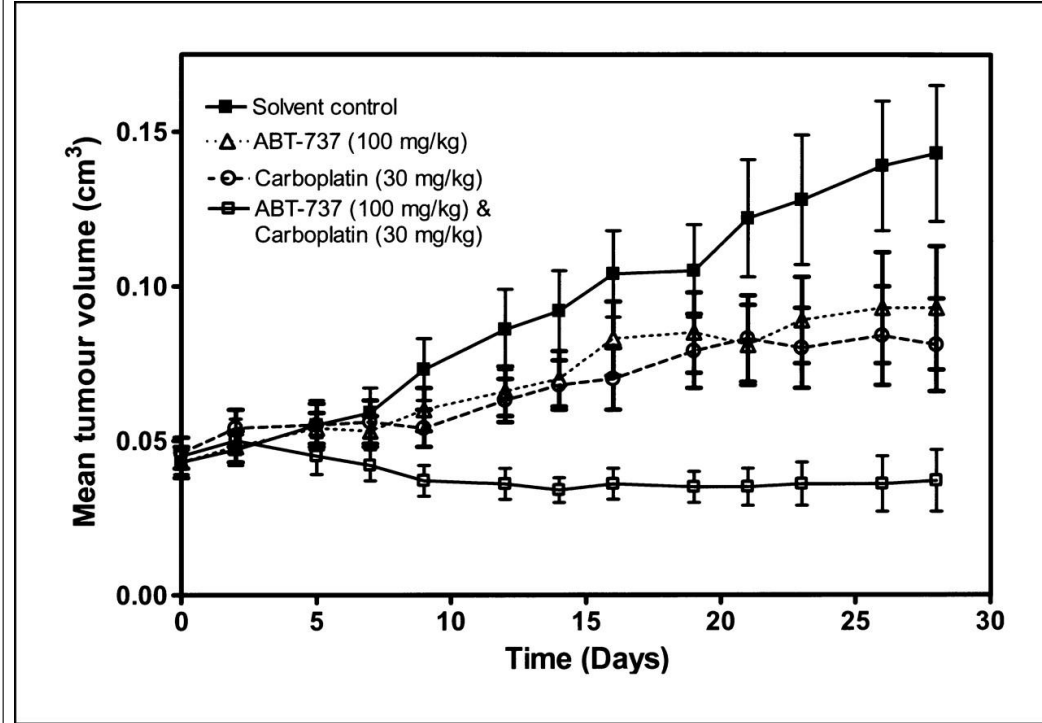
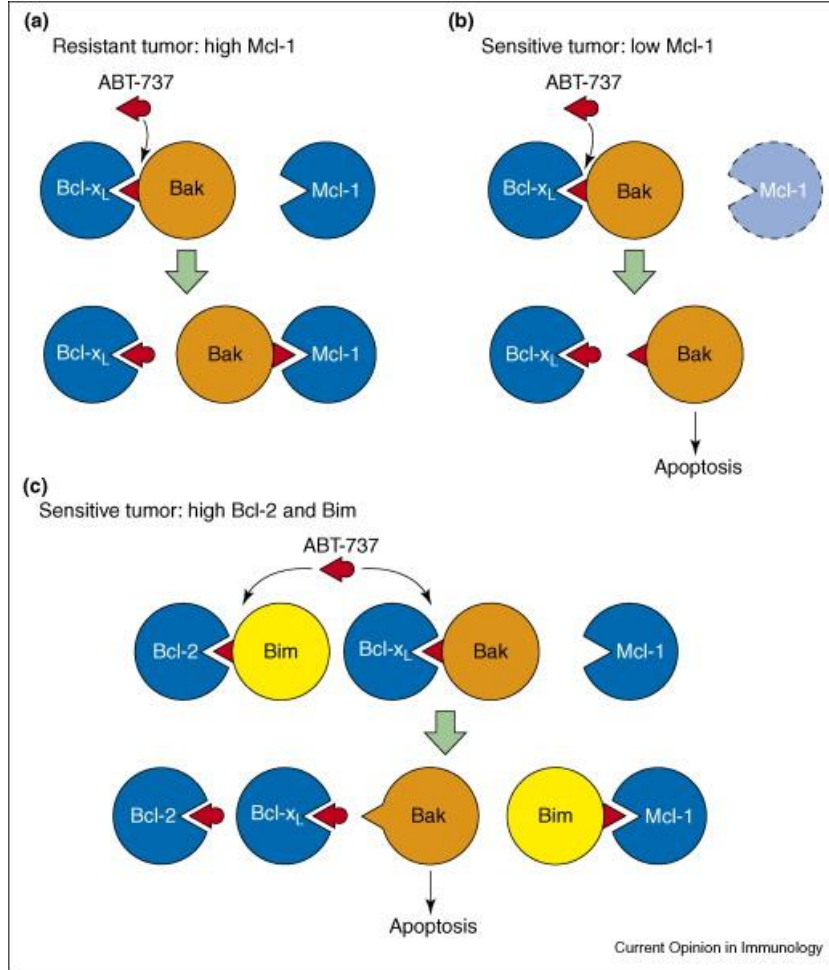
Akciğer metastazları

Avuç içi transplantasyon sonrası  
tümör büyümesi



Anoikis'e direnç  
Açlığa direnç  
Kan akımındaki hasara direnç

# Apoptozu artıran ilaçlarla kombinasyon kemoterapide sinerjistik etki yaratıyor



Yumurtalık kanserinde

ABT-737-karboplatin kombinasyonu  
[tümör graft modeli]

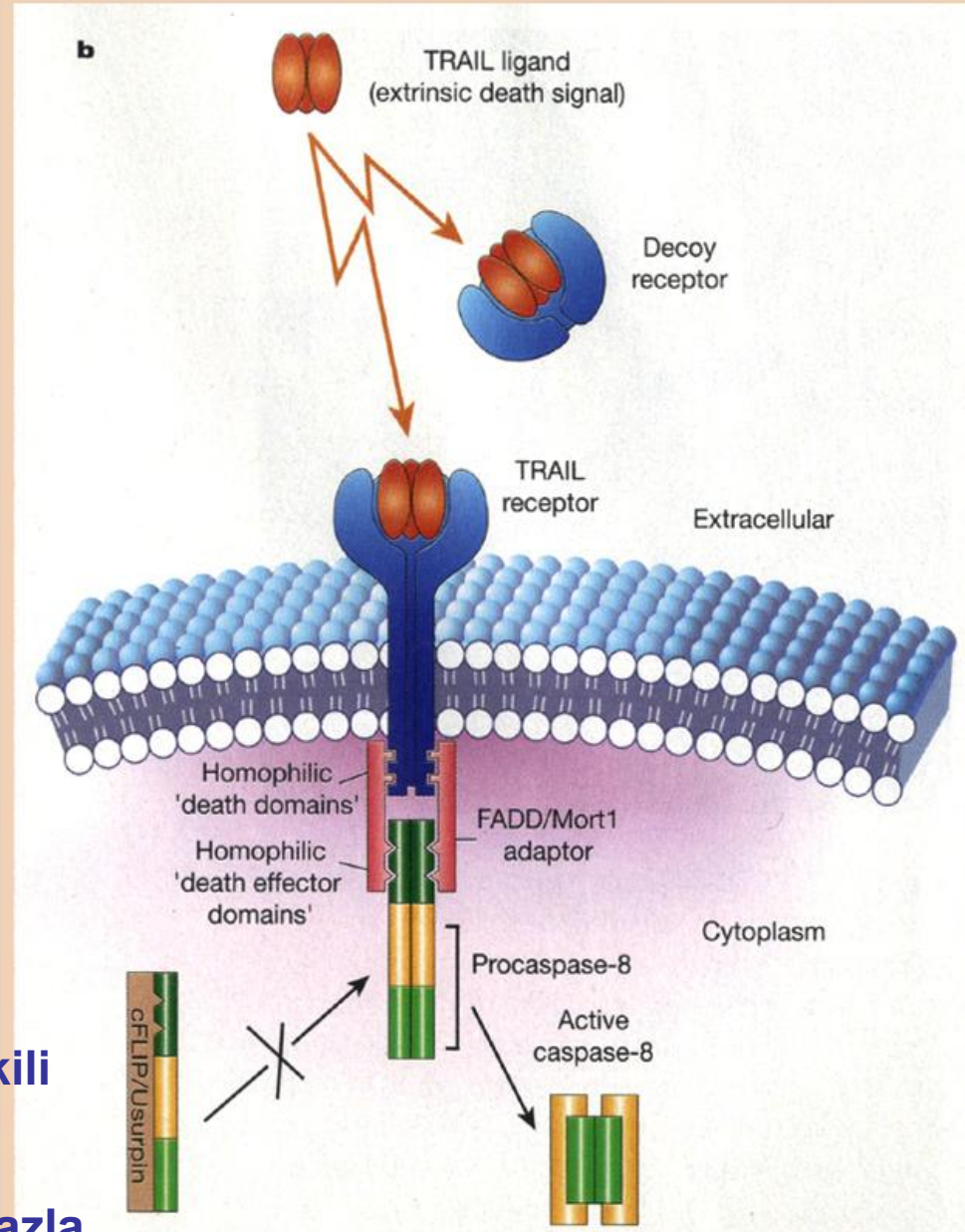
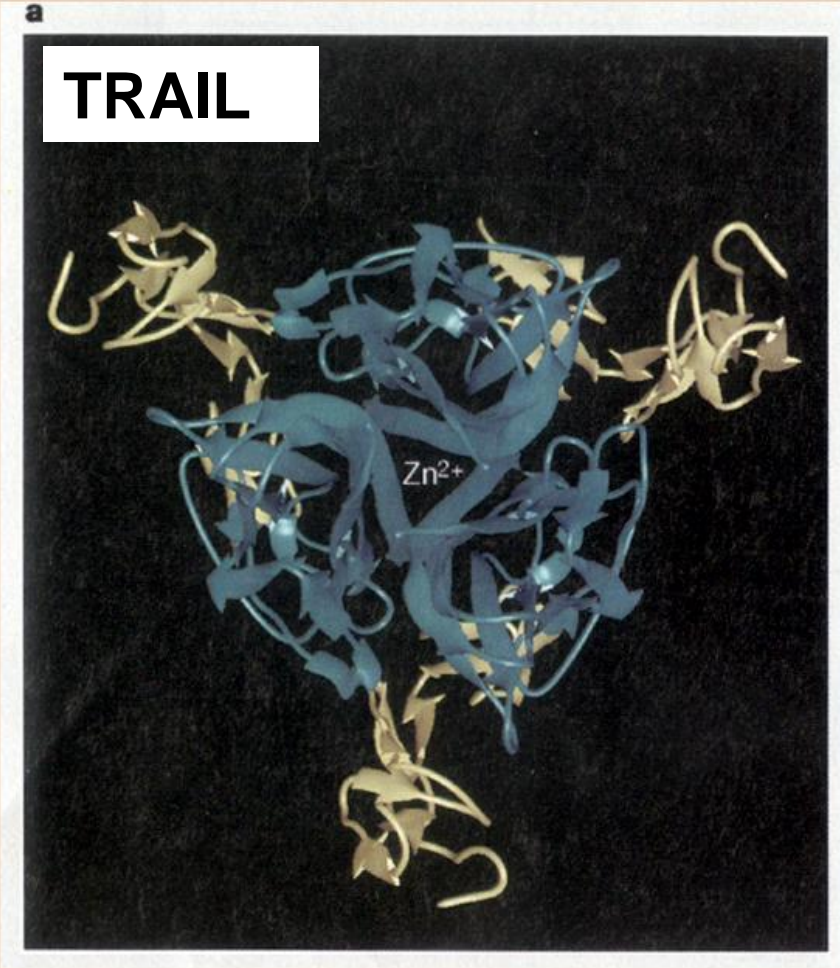
ABT-737, Bcl-2 baskılayıcı ilaç

# Apoptozla alakalı proteinlerin ifade farklılıkları kanser prognozunu etkiliyor

- . Artmış Bcl-2 ----- Kötü prognoz
- . Artmış FasL ----- CTL sayısında azalma
- . FasL uyarımı (with Doxorubicin)-----Kemoterapi yanıtını belirliyor
- . Artmış Bax----- Kemoterapi başarısını artırıyor
- . p53 antikorları ----- Kötü prognoz?  
cisplatin + 5-Fluorouracil ile kemoterapiye direnç



# Hücre ölümünü uyaran doğal sitokinlerin ilaç olarak kullanımı



Özellikle kanserli hücreleri öldürüyor.  
p53 anormallikleri olan hücrelere de etkili  
Normal hücreler daha az hassas  
-Kapan [decoy] almaçlar  
- Anti-apoptotik protein Bcl-2 vb daha fazla

# Apoptoz yolları hedefli ilaçlar: TRAIL almaç uyarıcıları ve IAP inhibitörleri

## TRAIL almaç uyarıcıları

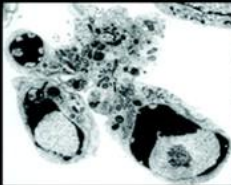
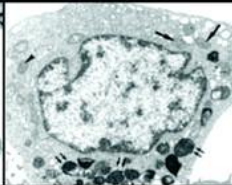
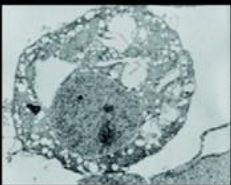
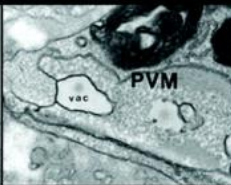
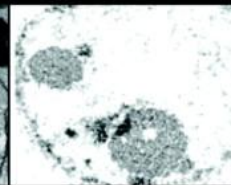
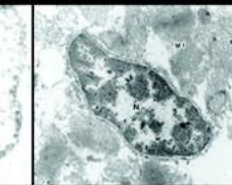
Reagent	Target	Description	Company	Clinical Status
Apo2L/TRAIL	DR4/5	rhTRAIL	Amgen/Genentech	Phase I/II
HGS-ETR1	DR4	fully human MAb	Human Genome Sciences	Phase I/II
HGS-ETR2	DR5	fully human MAb	Human Genome Sciences	Phase I/II
HGS-TR2J	DR5	fully human MAb	Human Genome Sciences	Phase I
CS-1008 (TRA-8)	DR5	humanized mouse MAb	Daiichi Sankyo	Phase I
AMG 655	DR5	fully human MAb	Amgen	Phase I/II
Apomab	DR5	fully human MAb	Genentech	Phase I/II
LBY135	DR5	humanized MAb	Novartis	Phase I

## IAP inhibitörleri

Organization	Compound name	Condition	Clinical stage
Genentech	GDC-0152	Locally advanced or metastatic solid malignancies, or non-Hodgkin's lymphoma without leukaemic phase	Phase I
Novartis Pharmaceuticals	LCL161	Advanced solid tumours	Phase I
TetraLogic Pharmaceuticals	TL32711	Solid tumours and lymphomas	Phase I
Ascenta Therapeutics	AT-406	Advanced solid tumours and lymphomas	Phase I
Human Genome Sciences	HGS1029	Advanced solid tumours and lymphomas	Phase I

IAP, inhibitor of apoptosis.

# Programlı hücre ölüm çeşitleri

Types →	Convicted Killers		New Suspects <i>(Innocent until proven guilty)</i>			
	Apoptosis	Autophagic	Paraptosis	Calcium-mediated	AIF/PARP-dependent	Oncosis
Characteristics ↓						
Morphology	Chromatin condensation, nuclear fragmentation, apoptotic bodies	Autophagic vacuoles	ER swelling, mitochondrial swelling	Membrane whorls	Mild chromatin condensation	Cellular swelling
Triggers	Death receptors, trophic factor withdrawal, DNA damage, viral infections, etc.	Serum, amino acid starvation, protein aggregates	Trophotoxicity	Calcium entry, deg mutants	DNA damage, glutamate, NO	Ischemia, excitotoxicity
Mediators	Caspases, BH family, etc.	JNK? MKK7? Atg orthologs	ERK2, Nur77	Calpains, cathepsins	PARP, AIF	JNK
Inhibitors	Caspase inhibitors, BH family, etc.	JNK inhibitors?	U0126 (MEK), DN Nur77	Calreticulin, some calpain inhibitors?	PARP inhibitors	JNK inhibitors
Examples	Type I pcd, nuclear pcd	Type II pcd	Type III pcd, cytoplasmic pcd	C. elegans deg mutants	Some excitotoxic pcd	Ischemic pcd

\* necroptosis

Bredesen, Stroke 2007



**INTERNATIONAL CELL DEATH SOCIETY PRESENTS**

**“Mechanisms of cell death”**

DATE: June 6<sup>th</sup> -June 9<sup>th</sup> , 2013

PLACE: **Fuengirola, Malaga Spain**

LIMIT: 300 (First Come First Serve)



1<sup>st</sup> with INTERNATIONAL PARTICIPATION  
**CELL DEATH  
RESEARCH CONGRESS**



30<sup>th</sup> OCTOBER - 3<sup>rd</sup> NOVEMBER 2013

**Çeşme, 30 October – 3 November 2013**

Sabancı  
Universitesi

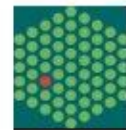


[myweb.sabanciuniv.edu/dgozuacik](http://myweb.sabanciuniv.edu/dgozuacik)



AUTO-PHAGY

Sabancı  
Universitesi



EMBL

