

ÖZET

Kolon kanseri, kanser nedeni ile ölüm oranlarında akciğer kanserinden sonra gelen yaygın bir kanser türüdür. Kolon kanserinin tedavisinde kullanılan geleneksel yöntemlerin başarıları tartışılmırken, bu yöntemlerin yan etkileri hastanın yaşam kalitesini düşürmektedir. Bu sebeple yapılan çalışmalarda kolon kanseri tanı ve tedavisine yönelik yeni yöntem ve ilaçların geliştirilmesi için çalışmalar yürütülmektedir. Bu çalışmalarda günümüzde özellikle hedefe yönelik, yan etkileri az, doğallığı yüksek yeni kemoterapotik ajanların üzerine olan çalışmalar önem arz etmektedir. Bitkilerden elde edilen brassinosteroid ailesi steroid yapıdaki bitkisel hormonlardan 24-epibrassinolid (EBR), steroid yapısı sebebiyle doğal kemoterapotik ilaçlardan biri olma potansiyeli taşımaktadır. Gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalarda EBR'nin prostat ve kolon kanserinde etkilediği hücresel sinyaller araştırılmış ve EBR'nin apoptotik hücre ölümünü tetiklediği gösterilmiştir.

Yapılan çalışmalar kolon kanserinin oluşmasının başlıca sebeplerinin başında büyümeye sinyali hedeflerinde ve tümör baskılacyjıcı bir protein olan p53'te gerçekleşen mutasyonların varlığı tespit edilmiştir. Bu noktadan yola çıkarak bu çalışmada EBR'nin p53 anlatımı bakımından farklı kolon kanseri hücrelerinde (HCT-116 (doğal tip), HT-29 (p53 mutant) ve HT-29 p53^{+/+}) hücre canlılığının EBR uygulamasıyla değişimi incelenmiştir. Bulgular EBR'nin hücre canlılığını p53 anlatımı farklı hücre hatlarında azalttığı sonucu ortaya çıkmıştır. Hücre canlılığının azalmasının sebebinin apoptotik hücre ölümü olup olmadığı incelendiğinde ise p53 anlatımı farketmeksızın hücre hatlarının tamamında EBR ile apoptozun tetiklendiği, p53'ün hedef proteinlerinin ifadelerinde artış tespit edilmiştir. PI3K, Wnt ve MAPK sinyallerinden etkilenen GSK3β proteininin büyümeye sinyalinin p53 anlatımından bağımsız şekilde kesildiği sonucu ortaya koyulmuştur. Ayrıca, GSK3β'nin p38 MAPK proteini ile aktivitesinin düzenlenebilecegi düşünülmektedir. Bu sonuçlar ışığında EBR'nin hücrelerde oluşturabilecegi stres koşullarının p53 anlatımı farklı hücre hatlarında endoplazmik retikulum (ER) stresine yol açtığı ortaya çıkartılmıştır.

EBR uygulaması ile elde GSK3β proteininde Ser9 fosforilasyonu ile aktivite kaybı tespit edilmiş ve bunun Alzheimer hastalığı (AD) tedavisinde kullanılan ilaçlardan litium klorür ile aynı etkiyi yarattığı görüşü ortaya çıkmıştır. Bu sebeple

Caenorhabditis elegans model organizmasında yapılan çalışmalarda, AD modellerinde ve GSK3 β mutant suşlarda EBR'nin LiCl'e göre daha düşük toksisiteye sahip olduğu, AD modellerinde ise doğal tip *C. elegans* suşuna göre yaşam süresini daha fazla artırdığı sonucu ortaya çıkartılmıştır. Elde edilen bulguların ışığında EBR'nin kolon kanserinde potansiyel kemoterapotik ajan olabileceğini ve ek olarak ve AD'de tedavi amaçlı ilaç olma potansiyeli olduğu belirlenmiştir.

ABSTRACT

Colorectal cancer is the most common cancer after lung cancer causing death in worldwide. Success of traditional therapies of colorectal cancer is being investigated and severe side effects influence patient life quality. Therefore recent studies are focused on the development of new methods and drugs for diagnosis and therapy of colon cancer. These studies are motivated to find targetted, natural new drug candidates with fewer side effects. 24-epibrassinolide (EBR), synthesized from plants, is one of the brassinosteroid family members of plant hormones. Its chemotherapeutic potential has been investigated due to the mammalian steroid-derived structure. EBR treatment affected cellular signaling pathways were investigated in *in vitro* colon and prostate cancer cells and its apoptotic potential has been revealed.

Major causes in the development of colon cancer have been investigated and mutations in the growth signal targets and tumor suppressor protein of p53 were found. Therefore, in this study we investigated EBR treatment effect on cell viability in different colon cancer cell lines with various p53 status: HCT-116 (p53 wild-type), HT-29 (p53 mutant), HT-29 p53^{+/+}. As a result, we demonstrated that EBR treatment decreased cell viability in all colon cancer cell lines regardless of p53 expression. While the cause cell viability decrease was examined, we observed that apoptotic was induced following EBR treatment in a p53 independent way. We also demonstrated that p53 target protein expressions were upregulated. Beside, this study also showed that GSK3β signaling is inhibited via PI3K, Wnt and MAPK pathways p53 independently. Furthermore, activity of GSK3β was regulated by p38 MAPK protein. In the light of these data, we concluded that stress conditions activated after EBR treatment in different cell lines with various p53 expression status, were because of Endoplasmic Reticulum (ER) stress induction.

In this study, we found that EBR treatment-caused Ser9 phosphorylation is associated with the inhibition of GSK3β and this effect of EBR was found similar to lithium chloride (LiCl) used in Alzheimer's Disease (AD) therapy. To model this effect, *Caenorhabditis elegans* model organism was used. We obtained that EBR exerted fewer toxic effect than LiCl in AD models and GSK3β mutant strains and

EBR treated AD models had longer life span than wild-type *C. elegans* organisms. All these data indicated that EBR has a potential chemotherapeutic effect against colon cancer and a drug candidate for AD.