T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İN VİTRO NÖROBLASTOM MODELİNDE HİPOKSİNİN TÜMÖR DAVRANIŞI ÜZERİNE ETKİSİ

Serdar BAYRAK
ORCID: 0000-0003-1458-9023

ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
Temel Onkoloji Doktora Programı

DOKTORA TEZİ

İZMİR
MAYIS 2022

TEZ KODU: DEU.HSI.PhD-2015970059

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İN VİTRO NÖROBLASTOM MODELİNDE HİPOKSİNİN TÜMÖR DAVRANIŞI ÜZERİNE ETKİSİ

Serdar BAYRAK
ORCID: 0000-0003-1458-9023

ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
Temel Onkoloji Doktora Programı
DOKTORA TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. H. Nur OLGUN
ORCID :0000-0001-9591-0207

Bu araştırma DEU Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından 2017.KB.SAG.016 proje numarası ile desteklenmiştir.

İZMİR
MAYIS 2022

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

ETİK BEYANI

Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğum ''İn vitro Nöroblastom Modelinde Hipoksinin Tümör Davranışı Üzerine Etkisi'' başlıklı Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgiler, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İMZA:

Öğrencinin Adı Soyadı: Serdar BAYRAK
Tarih: 20.05.2022

TEŞEKKÜR

Gerek lisans eğitimim gerekse de doktora sürecim boyunca bana sağlamış olduğu hem akademik imkanlar hem de insani değerler için çok kıymetli tez danışmanım Onkoloji Enstitüsü Müdürü Prof. Dr. H. Nur OLGUN'a

Birlikte çalışmaktan gurur duyduğum vizyoner kimliğini hayatımın her alanında hissettiren Translasyonel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yasemin BAŞBINAR'a

Çalışmalarımızda her zaman destekleriyle bizi cesaretlendiren Prevantif Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Hülya ELLİDOKUZ'a

Doktora hayatım boyunca her türlü imkânı sunan, çalışmalarımdaki manevi katkılarıyla destek olan, Temel Onkoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Safiye AKTAŞ'a

Güleryüzü ve ihtiyaç duyulan her anda bilimsel desteğiyle yanımda olan, Prof. Dr. Zekiye ALTUN'a

Üretkenliği, bilimsel zekâsı ve yaratıcı kimliğiyle tüm çalışmalarımda yanımda olan Doç. Dr. Gizem ÇALIBAŞI KOÇAL'a

Deney süreçlerimin tamamında birlikte çalıştığım başta Özge BAYRAK'a Şeniz İnanç SÜRER'e, Feriha TOKSÖZ'e, Hanife Ecenur MEÇO'ya, Tolga SEVER'e, Ezgi DAŞKIN'a ve Translasyonel Onkoloji Anabilim Dalı'nın tüm ekibine,

Doktora tez çalışmamı bütçe açısından destekleyen başta Dokuz Eylül Üniversitesi Rektörlüğü olmak üzere Bireysel Araştırma Projeleri'ne ve tüm ekibine,

Süreç boyunca destekleri için sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürler…

Prof. Dr. Serdar BAYRAK

İzmir, Mayıs, 2022

İÇİNDEKİLER

TABLOLAR DİZİNİ…… *iii*

ŞEKİLLER DİZİNİ…….. *iv*

SİMGELER VE KISALTMALAR……. *iii*

ÖZET……... *vii*

ABSTRACT……. *vii*

1.GİRİŞ VE AMAÇ…….. 1

1.1.Problemin Tanımı ve Önemi……. 1

1.2.Araştırmanın Amacı…….. 1

1.3.Araştırmanın Hipotezleri……... 2

2. GENEL BİLGİLER…….. 3

2.1. Nöroblastoma Tanımlaması…….. 3

2.2.Nöroblastoma Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi…… 3

2.3.Nöroblastomun Özellikleri ve Biyobelirteçleri…….. 4

2.4.Nöroblastoma Tanısı ve Klinik Belirtileri……. 5

2.4.1.Nöroblastoma Tanısı…….. 6

2.4.2.Nöroblastomada Evreleme (International Neuroblastoma Staging System-INSS)…….. 6

2.4.3.Nöroblastoma Tanı Kriterleri (International Neuroblastoma Staging System-INSS)…… 7

2.5. Hipoksi ve Nöroblastoma……. 7

2.6.Nöroblastoma Tedavisi…….. 8

2.6.1.Nöroblastoma ve Sisplatin…….. 9

2.6.2. Nöroblastoma ve Metformin…… 10

2.6.3. Sisplatin ve Metformin Kombine Tedavisi…….. 11

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi……... 12

3.2. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı…….. 12

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi……. 12

3.4. Çalışma Materyali……... 13

3.5. Araştırmanın Değişkenleri…….. 13

3.6. Veri Toplama Araçları…… 13

3.6.1.Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar…….…… 13
3.6.2. SH-SY5Y Hücre Hattı ile Hücre Kültürü…….…….. 14
3.6.3. Gerçek Zamanlı Proliferasyon Testleri…… 15
3.6.4. Yara İyileşme Modeli…….. 15
3.6.5. Gerçek Zamanlı PCR……... 16
3.6.6. Western Blot…… 17
3.6.7. İlaç Sitotoksisite Deneyi…….. 17
3.7.Verilerin Değerlendirilmesi……. 18
3.8.Araştırmanın Kısıtlılıkları…… 18
3.9. Etik Kurul Onayı……. 18
4. BULGULAR
4.1.Metforminin Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkisi……..… 19
4.2.Metforminin Migrasyon Üzerindeki Etkisi…….. 19
4.3.Metformin, HIF-1α'nın ve Hedef Genlerinin Transkripsiyon
Aktivitesini İnhibe Eder……. 21
4.4. Metformin, HIF-1α ve Hedef Moleküllerinin
Protein Seviyelerini Baskılar……. 22
4.6. Normoksik ve Hipoksik Koşullarda SH-SY5Y Hücre Hattında
Metformin ve Sisplatin Kombine Tedavisinin Sitotoksik Etkisi……... 25
4.5.Normoksik ve Hipoksik Koşullarda SH-SY5Y Hücre Hattında
Tekli Metformin ve Tekli Sisplatin Tedavisinin Sitotoksik Etkisi…… 26
4.6. Normoksik ve Hipoksik Koşullarda SH-SY5Y Hücre Hattında
Metformin ve Sisplatin Kombine Tedavisinin Sitotoksik Etkisi…….. 28
5. TARTIŞMA…….. 31
6. SONUÇ VE ÖNERİLER……. 35
7. KAYNAKLAR……. 36
8. EKLER……. 46
Ek 1. Etik Kurul İzni……. 46
9.KATKI……... 48
10. ÖZGEÇMİŞ……...… 49

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. Araştırma Planı……. 12

Tablo 2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve cihazlar…… 13

Tablo 3. Çalışmada kullanılan primer antikorlar…… 17

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Metformin muamelesi edilmiş SH-SY5Y hücre hattının yüzde hücre canlılık grafiği……..… 19

Şekil 2. Metforminin hipoksik ve normoksik koşullarda hücre migrasyonuna etkisini gösterek grafik……..… 20

Şekil 3. Metforminin, normoksi ve hipoksi altında HIF-1α (A), PDK-1 (B), VEGF-A (C) ve GLUT-1 (D) mRNA ekspresyon seviyesi üzerindeki etkileri…… 21

Şekil 4. Metforminin HIF-1 alfa ekspresyonuna etkisinin incelenmesi…… 22

Şekil 5. (A), (B) ve (C) 'de gösterilen normoksi ve hipoksi altında SH-SY5Y hücrelerinde PDK-1 protein seviyesinin ekspresyonunu değerlendirmek için Western Blot yapıldı…… 23

Şekil 6. Metforminin (A), (B) ve (C) 'de gösterilen normoksi ve hipoksi altında SH-SY5Y hücrelerinde GLUT-1 protein ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkileri…. 25

Şekil 7. VEGF-A proteini, (A) ve (B) 'de gösterilen hipoksi altında metformin ile muamele edilmiş SH-SY5Y hücreleri ile Western Blot yoluyla analiz edildi…….. 26

Şekil 8. Normoksik ve hipoksik koşullarda tekli Metformin ve Sisplatin ile muamele edilmiş SH-SY5Y hücre hattının yüzde hücre canlılık grafiği…….…… 27

Şekil 9. Normoksik ve hipoksik koşullarda tekli Sisplatin ve Metformin-Sisplatin kombinasyonu ile muamele edilmiş SH-SY5Y hücre hattının yüzde hücre canlılık grafiği……. 29

SİMGELER VE KISALTMALAR

NGF	Nerve Growth Factor
HIF	Hipoksi İndükleyici Faktör
Trk	Tirozin kinaz
BDNF	Brain-Derived Neurothrophic Factor
BT	Batın Tomografi
MR	Manyetik Rezonans
MIBG	Metaiyodobenzilguanidin
HRE	Hipoksi Response Element
EPO	Eritropoietin
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
PDQ	Physician Data Query
FDA	Food and Drug Administration
MAPK	Mitojenle aktive olan protein kinaz
NF-KB	Nükleer faktör kappa beta
ATP	Adenozin trifosfat
AMPK	AMP ile aktive olan protein kinaz
FBS	Fetal Sığır Serumu
RTCA	Real-Time Cell Analyzer System
PBS	Phosphate Buffered Saline
WST-1	(4-[3-(4-iyodofenil)- 2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disulfonat
IC_{50}	Yarı-maksimum inhibisyon konsantrasyonu

CO2	Karbondioksit
mM	Milimolar
uM	Mikromolar
GLUT-1	Glukoz Transportu-1
PDK-1	3-fosfoinositite bağımlı protein kinaz-1

IN VITRO NÖROBLASTOMA MODELİNDE HİPOKSİNİN TÜMÖR DAVRANIŞLARINA ETKİSİ

Doktora Tezi
Serdar BAYRAK

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Onkoloji Anabilim Dalı

ÖZET

Nöroblastoma, çocukluk çağında gözlenen, hipoksik ortama sahip, ekstrakraniyal bir katı tümör çeşididir. Bu hipoksik ortamın oluşmasında VEGF ve HIF'ler büyük rol oynar. Hipoksik mikroçevre düşük prognoza ve nöroblastomanın yetersiz tedavi ile sonuçlanmasına yol açar. Metforminin tümör büyümesini inhibe ettiği ve potansiyel kemoterapötik ajan olabileceği gösterilmiştir. Metforminin SH-SY5Y hücre hattı üzerindeki antikanser aktivitesi tam olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmanın amacı metforminin SH-SY5Y hücre hattı üzerindeki antikanser etkinliğini incelemek ve hipoksik/normoksik koşullardaki moleküler etkisini aydınlatmaktır.

Bu amaçla, SH-SY5Y hücreleri artan dozlarda Metformin'e maruz bırakılmıştır. SH-SY5Y hücrelerinin canlılığı, gerçek zamanlı xCELLigence RTCA sistemi kullanılarak değerlendirilmiştir. SH-SY5Y hücrelerinin migrasyonu yara iyileşmesi modeli ile belirlenmiştir. Metforminin mRNA ve protein ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkisi, Real-time PCR ve Western Blot kullanılarak değerlendirildi.

Yapılan çalışmaların sonucuna göre Metformin'in SH-SY5Y hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. Metformin tedavisi, SH-SY5Y hücrelerinin migrasyonunu ve normoksi ve hipoksi altında HIF-1α, PDK-1 ve VEGF-A'nın mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde azaltmıştır. Hipoksi durumunda, HIF-1α ve VEGF-A'nın protein ekspresyonu, SH-SY5Y hücrelerinde Metformin uygulamasından sonra azalmıştır. PDK-1'in protein ekspresyonunun, SH-SY5Y hücrelerinde hem normoksi hem de hipoksi koşullarında azaldığı gözlendi.

Bu çalışmada Metformin'in SH-SY5Y hücreleri üzerindeki anti-kanser etkisi belirlenmiştir. Metformin, SH-SY5Y'de anti migratif etki göstermiştir. Metformin tedavisinin, nöroblastoma hücrelerinde HIF-1α'nın gen ve protein seviyelerini ve hedef molekülleri azalttığı gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: nöroblastoma, hipoksi, metformin, sisplatin

Tezin sayfa adedi:

Danışman: Prof. Dr. H. Nur OLGUN

EFFECT OF HYPOXIA ON TUMOR BEHAVIOR IN *in vitro* NEUROBLASTOMA MODEL

Doctoral Thesis

Serdar BAYRAK

DOKUZ EYLUL UNIVERSITY HEALTH SCIENCE INSTITUTE

Department of Oncolgoy

ABSTRACT

Neuroblastoma is an extracranial solid tumor of early childhood that has a hypoxic environment. VEGF and HIFs molecules play a role in adaptation to this microenvironment. Hypoxic microenvironment leads to poor prognosis and inadequate treatment of neuroblastoma. Metformin has been shown to inhibit tumor growth, might be a potential chemotherapeutic agent. The anti-cancer activity of Metformin on SH-SY5Y cells are not fully elucidated. The aim of this study is to determine the anti-cancer effect of Metformin on SH-SY5Y cells and to elucidate its molecular action mechanism in hypoxia/normoxia.

SH-SY5Y cells were exposed to increasing doses of Metformin. The viability of SH-SY5Y cells was evaluated using the real time xCELLigence RTCA system. Migration of SH-SY5Y cells was determined using wound healing. The effect of metformin on mRNA and protein expression levels was evaluated using Real-time PCR and Western Blot, respectively.

Metformin was observed to significantly reduce the viability of SH-SY5Y cells. Metformin treatment reduced migration of SH-SY5Y cells. In addition, Metformin treatment significantly reduced mRNA expression of HIF-1α, PDK-1 and VEGF-A in SH-SY5Y cells under normoxia and hypoxia. In hypoxia condition, protein expression of HIF-1α and VEGF-A decreased after Metformin administration

on SH-SY5Y cells. Protein expression of PDK-1 was observed to decrease in both normoxia and hypoxia conditions on SH-SY5Y cells.

In this study, the anti-cancer effect of Metformin on SH-SY5Y cells was determined. Metformin has been observed as inhibitor of migration in SH-SY5Y. Metformin treatment has been shown to reduce gene and protein levels of HIF-1α and target molecules in neuroblastoma cells.

Keyword: neuroblastoma, hypoxia, metformin, cisplatin

Page number:

Advisor: Prof. Dr. H. Nur OLGUN

1.GİRİŞ VE AMAÇ

1.1.Problemin Tanımı ve Önemi

Nöroblastom en sık görülen ekstrakraniyal solid tümördür ve çocukluk çağı kanserine bağlı ölümlerin yaklaşık %15'ini oluşturur. Nöroblastoma tümörleri en sık karında gelişir ve en sık adrenal bezde lokalizedir. Nöroblastom tümörleri embriyonik tümör olarak sınıflandırılmıştır, çünkü literatüre bağlı kanıtlar bu tür tümörlerin fetal gelişim sırasında nöral krest hücrelerinden kaynakladığını göstermektedir (1). Sempatoadrenal öncüllerin sempatik ganglionlara ve adrenal kromafin hücrelerine dönüşümü nöral büyüme faktörü (NGF), MYCN gibi çeşitli faktörlerin aşırı ekspresyonunu gerektirir. Nöroblastomlar, mevcut tedavi modalitelerinin etkinliğini sınırlayan genetik, morfolojik ve klinik heterojenlik sergiler. Düşük ve orta riskli hastalarda sağkalım %100'e yaklaşırken, yüksek riskli nöroblastom hastaları için 5 yıllık sağkalım oranı %50'den azdır. Yüksek riskli hastalarda standart tedavi kemoterapötikleri içerir ve bunlardan başlıcaları platin grubundan sisplatindir. Yüksek riskli hastaların yaklaşık yarısı, tedaviden sonraki ilk 2 yıl içinde birinci basamak tedavi protokolüne yanıt vermemekte veya nüks etmektedir. Ek olarak, mevcut standart tedavilere verilen yanıt, çoklu ilaç direnci gelişiminden şiddetli toksisitelere kadar değişen bir tabloyu içerir. Bu ilaç direncinin gelişiminde tümör mikroçevresindeki oksijen yetersizliği yani hipoksik mikroçevrenin etkisinin olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, hipoksinin tümör metastazı ve nüksü ile ilgili olduğu ve indüklenen hipoksinin kemoterapinin etkinliğini azaltabileceği düşünülmektedir. Hipoksik mikroçevrede artmış HIF-1 alfa ekspresyonun apoptozu hedefleyerek platin grubu ilaçların etkinliğini azalattığı bilinmektedir. Tip 2 diyabet tedavisinde oldukça sık kullanılan oral antidiyabetiklerden metforminin bazı kanser hücre hatları üzerinde antikanser etkisinin bulunduğu literatürde gösterilmiştir. Metformin, hipoksik mikroçevrede HIF-1 alfa ekspresyonunu inhibe ederek etki göstermektedir. Sisplatin ile metforminin kombinasyonunda hipoksik mikroçevrede görülen ve HIF-1 alfa'ya bağlı gelişen sisplatin direncinin engellenebileceği düşünülmektedir.

1.2.Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada nöroblastom tedavisinde klinikte etkin bir şekilde kullanılan sisplatin'in hipoksik mikroçevreye bağlı duyarsızlaşması sebebiyle tedaviye ek metformin kombinasyonun hücre proliferasyonuna etkisi ve SH-SY5Y nöroblastom hücre hattında metforminin hücre davranışına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

1.3.Araştırmanın Hipotezleri

1. Hipoksik koşullarda metforminin SH-SY5Y hücre hattında terapötik etkisi vardır.
2.Nöroblastom tedavisinde metformin ile kombine edildiğinde sisplatinin anti-proliferatif etkisini artar.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nöroblastoma Tanımlaması

Nöroblastoma pediatrik yaş grubunda en sık görülen ekstrakranial solid tümör tipidir. Genel olarak adrenal medulla ve sempatik ganglion hücrelerinden köken almakta olup, embriyolojik olarak ilkel nöral krest hücrelerinden oluştuğu düşünülmektedir (2). Nöroblastom, sempatik sinir sisteminin herhangi bir yerinde, örneğin adrenal bezde veya sempatik ganglionlarda gelişebilir ve önemli intertümör heterojenliği ile karakterize edilir (3). Klinik prezentasyonun çok çeşitlilik arzeden bu patolojide; hastalık primer tm semptomları ile ya da metastatik tm bulguları ile gidebileceği gibi paraneoplastik sendromun bir parçası olarak da gidebilir. Bu klinik çeşitlilik içinde hastalığın prognostik verileri de değişiklikler içermektedir. Hastaların bir kısmında regresyon olurken, bir kısmında benign hastalığa farklılaşma bir kısmında da malign seyir izlenebilmektedir (4).

2.2.Nöroblastoma Epidemiyolojisi ve Etiyolojisi

Çocukluk çağı tümörlerinin %8-10' unu oluştururlar (5). Amerika Birleşik Devletleri verilerine göre her yıl 800 yeni nöroblastom vakası görülmektedir. Sıklıkla metastaz yapar ve sempatik sinir sisteminin ganglionik yolağından köken almaktadır. Nöroblastomalar tüm nöroblastik tümörlerin %97'sini oluşturur. Çocukluk çağı tümörleri 10 yaşından küçük çocukların %90'ında ortaya çıkmaktadır. Çocukluk çağı tümörlerinin, özellikle ilk 12 ay üzerinde görülen ekstrakraniyal solid tümörlerin %90'ını nöroblastoma oluşturur (6). Nöroblastom tanısı almış hastalarda mortalite oranı %15'tir. Ortalama tanı yaşı ise 1,5 olarak tespit edilmiştir (7).

Heterojenitesi çok fazla olduğu için histopatolojik görünüm, yerleşim yeri ve biyolojik açıdan çok fazla çeşitlilik göstermektedir. Klinik davranış çeşitliliklerinden ve agresif özelliklerinden dolayı metastatik yayılma ile benign ganliyonöromaya olgunlaşmasından ölüme kadar birçok yola ilerleyebilir. Klinik varyasyonlarının çok çeşitli olmasının sebepleri arasında tümör evresi, histoloji ve hasta yaşı gibi birçok biyolojik faktör bulunmaktadır. Heterojenitesi bu kadar fazla olan bu tümör çeşidinin bazı moleküler mekanizmaları halen aydınlatılamamıştır (8).

Etiyoloji ile ilgili birçok çalışma yapılmasına rağmen net bir çevresel faktöre ulaşılamamıştır. Ayrıca hamilelikte ilaç kullanımının etkisi ile ilgili olarak da net bir tanımlama gerçekleştirilememiştir. Sonuç olarak embriyolojik nöral krest gelişim bozukluğu suçlanmıştır (9).

2.3.Nöroblastomun Özellikleri ve Biyobelirteçleri

Nöroblastomlu çocuklar, tanı anında klinik faktörler ve biyolojik belirteçler temelinde farklı risk alt gruplarına ayrılabilir. Bunlardan ilki olan düşük veya orta risk grubu, %95'i aşan sağkalım oranlarıyla olumlu prognoza sahiptir. Genellikle 18 aydan küçük çocuklarda görülür (10,11). Diğerini ise yüksek risk grubu oluşturur. Bu grupta uzun süreli sağkalım oranı %50'den az görülmektedir. Genellikle 18 aydan büyük çocuklarda görülürken sıklıkla kemik ve kemik iliğine metastatiktir. Bu tümörlerde genellikle MYCN gen amplifikasyonu saptanır(12).

MYCN amplifikasyonu, nöroblastom tümörlerinin %16-25'inde tespit edilir. Yüksek riskli nöroblastom hastalarında vakaların %40-50'sinde görülür. Olumsuz klinik ve patolojik tümör özelliklerinin çoğu MYCN amplifikasyonu ile ilişkilidir (13).

Literatüre bakıldığında nöroblastoma tanısı almış hastalarda yapılan genetik çalışmalarda hastaların bir kısmında genetik yatkınlık tespit edilmektedir. Hastaların %22 sinde germinal mutasyon olduğu düşünülmektedir. Nöroblastomlu hastalarda yapılan çoğu genetik çalışmada 6. Kromozomun kısa kolunda kalıtsal yatkınlık bölgesinin varlığı dikkat çekmektedir. Tespit edilen bir diğer genetik bulgu da 2.kromozomun kısa kolunda bulunan MYCN amplifikasyonudur. Bu protoonkogenin varlığı ileri evre hastalık ve prognozda negatif yönelimle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca 17. Kromozomun uzun kolunda görülen anomali de yine kötü prognostik faktörlerden birini oluşturmaktadır (5). Birinci kromozomun kısa kolundaki (1p) delesyon; hastaların yaklaşık %25-30'unda saptanabilir (15). 1p delesyonu daha sık ileri evre hastalarda ve MYCN amplifikasyonu ile birlikte gözlenirken kötü prognozla ilişkilidir. Sempatik sinir sistemi hücrelerinin nöroblastom hücrelerine dönüşüm mekanizması halen çok iyi anlaşılamamıştır.

Hücrelerin farklılaşmasında muhtemelen nörotrophin reseptör yolunun kullanıldığı düşünülmektedir. Bu yolda Tirozin kinaz (Trk) A, B ve C reseptörleri ve bunlara bağlanan 'nerve growth factor'(NGF), 'brain-derived neurotrophic factor' (BDNF), 'neurotrophin-3' (NT-3) gibi faktörleri barındırır. TrkA' nın aktivasyonu hücrenin yaşlanmasını ve farklılaşmasını artırmaktayken, inhibisyonu ise programlanmış hücre ölümüne neden olmaktadır. Böylece NGF'nin varlığı veya yokluğu TrkA bulunan hücrelerin davranışına etki etmektedir. TrkA'nın yüksek seviyeleri erken yaş, erken evre, MYCN amplifikasyonunu barındırmaması ve olumlu sonuçlarla ilişkilendirilebilir. TrkB ise agresif tümör davranışı ve MYCN amplifikasyonu ile ilişkilidir (16).

Sağlıklı insan dokusunda *FOXR2* erkek üreme dokuları dışında genelde eksprese edilmez. *FOXR2* gen ekspresyonu, nöroblastom vakalarının yaklaşık %8'inde gözlenir. *FOXR2'*nin aşırı ekspresyonu yüksek MYCN ekspresyonuna sahip tümörlerde görülür (17).

Çok sayıda rapor, yüksek riskli nöroblastomların tekrarlayan gen mutasyonlarına sahip olduğunu bildirmiştir. Bunlardan en yaygın gen mutasyonu, hastaların yaklaşık %10'unda gözlenen *ALK* gen mutasyonudur. *ALK* nöroblastomda en sık bulunan ekzonik mutasyon olmakla birlikte kalıtsal nöroblastomun ana nedeni olarak tanımlanmıştır (18).

2.4.Nöroblastoma Tanısı ve Klinik Belirtileri

Nöroblastom sempatik sinir sisteminin bir tümörü olarak bu yapının olduğu her yerde lokalize olabilir. Abdominal bölge (%65) nöroblastomun sıklıkla tanımlandığı lokasyon olarak dikkat çekmektedir. Hematojen ve lenfatik yolla metastaz yapabilmektedir ve olguların 3/4'ünde tanı anında metastaz tespit edilmektedir. (19). Hematojen yolla kemik iliği, kemik,karaciğer,deri nadiren akciğer ve beyin parankimine metastaz yapabilmektedir. Klinik bulgular hastalığın lokalize olduğu alana ve metastatik bölgelere bağlı olarak değişebilmektedir (5). Abdominal bölgede lokalize olan tümör kitle etkisi ile karın ağrısı,kusma, yeme güçlüğü gibi şikayetlerle beraber alt extremite ödemi ile de prezente olabilmektedir. Kitle paraspinal bölgede ise bel ağrısı sıklıkla karşılaşılan bulgu olmakla beraber nadiren de plejik tablolarda

görülebilmektedir. Yeni doğan nöroblastom olgularında ise yaygın karaciğer metastazları, subkutanöz nodüller, kemik iliği tutulum bulguları, hidrops fetalis görülebilmektedir (20). Ayrıca paraneoplastik sendromların bir parçası olarak klinikte karşımıza çıkabilir (21).

2.4.1.Nöroblastoma Tanısı

Nöroblastom vakalarında fizik muayene çok önemlidir. Olgularda abdominal kitle varlığı, organomegaliler, lenfadenopatiler,pitozis gibi bulgular ayrıntılı olarak değerlendirilmelidir. Görüntüleme yöntemleri arasında düz grafi çekimleri, abdominal usg, BT ve MR sıklıkla kullanılmaktadır. Metaiyodobenzilguanidin (MIBG) sintigrafisi evreleme ve takipte oldukça önemli bir araç olarak karşımıza çıkmaktadır. Bununla birlikte kemik iliği biyopsisi tanıda önemlidir. Ayrıca hastalarda Tam kan sayımı, biyokimyasal tetkikler (Laktik dehidrogenaz, Ferritin, Nöron Spesifik Enolaz) idrarda katekolamin metabolitlerinin tayini (VMA, HVA) tanıda yol gösterici diğer önemli laboratuvar yöntemlerdir (22).

2.4.2.Nöroblastomada Evreleme (International Neuroblastoma Staging System-INSS)

Evre 1: Makroskobik olarak tam çıkarılması lokalize tümör (mikroskobik rezidü olsun veya olmasın)

Evre 2A: Makroskobik olarak tam çıkarılamamış lokalize tümör, aynı taraf lenf nodu tutulumu yoktur.

Evre 2B: Makroskobik olarak tam veya kısmen çıkarılmış lokalize tümörle birlikte aynı taraf lenf nodu tutulmuştur. (22)

Evre 3: Orta hattı geçen ve çıkarılamayan tümör

Evre 4: iskelet sistemi, kemik iliği, yumuşak doku, uzak lenf bezleri gibi uzak organ ve doku tutulumu

Evre 4S: Evre 1 veya 2'deki lokal hastalıkla beraber başka uzak metastaz olmaksızın deri, karaciğer ve/veya kemik iliği tutulumunun olmasıdır (kemik metastazı olmaksızın)

2.4.3.Nöroblastoma Tanı Kriterleri (International Neuroblastoma Staging System-INSS)

1-Tümör dokusunun histopatolojik tanısı ve/veya artmış idrar veya serum katekolaminleri veya

2-Kemik iliği aspirasyonu veya biyopsisinde tümör hücrelerinin gösterilmesi ile beraber idrar veya serum katekolaminlerinin arttığının gösterilmesi (23).

2.5. Hipoksi ve Nöroblastoma

Hipoksi, tümör mikro çevresinde oluşan düşük oksijen seviyesini tanımlamaktadır. Genel olarak uygunsuz tümör vaskülarizasyonuna bağlı yetersiz oksijen sunumu ile beraber kanser hücrelerindeki oksijen kullanım artışının neden olduğu dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Hipoksik koşullara maruz kalan hücreler genellikle protein sentezini azaltarak adaptasyon sağlamaya çalışır (7). Hipoksiye maruz kalan hücrelerin genel olarak tepkisi hücre döngüsünün G1-S1 fazında duraklama olarak yansımaktadır. Hipoksiye cevap olarak kompleks mekanizmalar düşük oksijen koşullarına uyum için tetiklenir ve bunlar büyük ölçüde HIF ler ve gen expresyonu aracılığıyla gerçekleşir (15). Antikanser tedavilerine direnç, metabolik yeniden programlama, bağışıklık, angiogenez,metastaz gibi birçok parametrede bu mekanizmalar rol oynar ve tek başına intratümoral hipoksi tümör saldırganlığı ve zayıf prognoz ile yüksek oranda ilişkilidir. Hipoksi ve HIF'ler uzun zamandır kanser kemoterapotikleri için kilit hedefler olarak kabul edilirler. Bundan dolayı da birçok çalışma intratümoral hipoksiyi ortadan kaldırma ve HIF sinyalizasyonunu inhibe etmeye yöneliktir. Solid tümörlerde hipoksinin kapsamı tümör hücresi heterojenliğine ve vaskülaritenin dağılımına bağlıdır. Hücrelerdeki hipoksininmoleküler mekanizmasından sorumlu temel protein HIF' dir. 1992 yılında (Eritropoietin) EPO' nun 3' Hipoksi cevap elementi (HRE; 5-RCGTG-3) ile

oksijene bağımlı bir şekilde etkileşen çekirdek faktörü keşfedilmiştir. Bu DNA bağlayan komplekse “Hipoksi ile indüklenebilir faktör-1” ya da ‘HIF-1’olarak isimlendirilmiştir (24).

Hipoksik koşullar altında, HIF ler stabilize edilir ve düşük oksijen koşullarına hücresel adaptasyon için gerekli genlerin aktivasyonuna izin verilir. HIF’ ler oksijene duyarlı bir alt birimle beraber oksijene duyarsız bir alt birimle beraber heterodimerik bir yapı oluştururlar. Şu ana kadar 3 adet HIF a üyesi tespit edilmiştir. HIF-1, HIF-2, HIF-3 olarak isimlendirilen bu heterodimerlerin her birisi,normoksik koşullarda ayrışan alfa alt birim ve beta alt birimden oluşan proteinlerdir. HIF1a ve HIF2a, pozitif hipoksi yanıtında hayati bir rol oynarken, HIF3'ün negatif modülatör olduğu tahmin edilmektedir (25).

İntratümöral hipoksi, kanser ilerlemesi ve tedaviye direnç ile ilişkilidir. Bu olumsuz etkiler, hipoksik adaptif değişikliklere ve gelişmiş kanser heterojenliğine bağlanmıştır. Hipoksi sinyalizasyonunun en önemli aracısı olarak, HIF' ler, aşağı akış hedef genlerinin transaktivasyonu yoluyla hipoksik yanıtta baskın bir rol oynar. Çok sayıda HIF hedef geni tanımlanmıştır. Bu işlevler, kök, dormansi, istila, metastaz ve metabolizma dahil olmak üzere kanser biyolojisinin hemen hemen tüm yönlerinde ve ayrıca mikroçevrede anjiyogenez, bağışıklık ve hücreler arası iletişimde işlev görür.

Hipoksi ile birlikte indüklenen transkripsiyon faktörleri ile beraber artan VEGF gibi pro anjiojenik faktörlerin transkripsiyonunun ve sentezi sonucunda artan vaskülarizasyon buna bağlı olarak artan tümör kitlesi ile karşılaşılır (26).

Tümör hücreleri hipokside tedaviye direnç gösterir. HIF-1 alfa faktörü, hipoksik koşullarda tümör hücrelerinde birikir ve kanser tedavisine karşı kazanılmış direnç ve hipoksiye adaptasyonda rol oynar. HIF-1 alfa çekirdeğe taşınır ve anjiyogenez, hücre proliferasyonu, glikoz metabolizması ve apoptozda yer alan birçok genin ekspresyonunu destekler (27).

2.6.Nöroblastoma Tedavisi

PDQ (Physician Data Query) 2022 verilerine göre, 1975 ve 2010 yılları arasında çocukluk çağı kanser mortalitesi %50'den fazla oranda azalmıştır. Nöroblastom için, 5 yıllık sağkalım da aynı oranda azalmıştır (28). Bunun sebebi erken teşhis ve etkin tedavi yöntemleridir.

Nöroblastom tedavisi için uygulanan mevcut terapi üç aşamaya bölünmüştür: indüksiyon, konsolidasyon ve konsolidasyon sonrası idame tedavisi. Tedavi, kemoterapi, cerrahi rezeksiyon, radyasyon tedavisi ve immünoterapi içerir. Tedavinin uygulandığı bölgeye bağlı olarak küçük değişiklikler gözlense de yüksek riskli nöroblastom için genel olarak indüksiyon sırasında platin grubu, akilleyici ve topoizomeraz ajanlarını içeren yoğun kemoterapi uygulanır (29).

2.6.1.Nöroblastoma ve Sisplatin

Sisplatin etkinliği iyi bilinen bir kemoterapötik olup, nöroblastom için klinikte yaygın olarak kulllanılmaktadır.(30). Sisplatin, diğer adıyla *cis*-diamindiklorplatinum (II), metalik (platin) bir koordinasyon bileşiğidir. Kanser tedavisi için *Food and Drug Administration* (FDA) tarafından onaylı ilk platin bileşiği olan sisplatin, sarkomlar, yumuşak doku kanserleri, kemikler, kaslar ve kan damarları dahil olmak üzere farklı kanser türlerinde kullanımı klinik olarak kanıtlanmıştır (31). Sisplatin kanser tedavisinde etkin biçimde kullanılsa da ototoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi yan etkileri de barındırır. Sisplatin tedavisinden sonra nefrotoksisite azaltılabilirken, ototoksisite için herhangi bir klinik yöntem bulunmamaktadır. Nörotoksisite sebebiyle çocuklarda öğrenme sorunlarına yol açarken işitme kaybına neden olabilir (32).

Nöroblastomda kullanılan terapötik stratejilerin çoğu, hücre döngüsü ilerlemesine ve DNA sentezine veya işlevine müdahale ederek, içsel ve dışsal apoptotik yollar yoluyla DNA hasarına ve apoptozun indüklenmesine neden olur (33). Sisplatin birden fazla mekanizma ile antikanser etkiler uygular fakat en belirgin etki şekli, DNA lezyonlarının oluşumunu, ardından DNA hasar yanıtının aktivasyonunu ve mitokondriyal apoptozun indüklenmesidir. Sisplatin kaynaklı apoptoz, sisplatinin antikanser etkisi için esastır. Sisplatin, dışsal ölüm reseptör yolunu veya içsel mitokondriyal yolu tetikleyerek apoptozu uyarır. Bcl-2 ailesi

proteinleri ve p53 gibi çoklu proteinler ve mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) yolu ve nükleer faktör-B (NF-KB) yolu dahil olmak üzere çeşitli sinyal yolları, dışsal ve içsel apoptoz yollarında yer alır (34).

Başlangıç terapisi olarak tutarlı bir davranış sergilemesine rağmen sisplatin tedavisi sıklıkla terapötik başarısızlığa yol açan kemorezistansın gelişmesine neden olur (35). Son literatüre göre kemorezistans büyük ölçüde HIF-1 alfa'nın ekspresyonu ve aktivasyonundan kaynaklanmaktadır (36). Karsinogenez, tümör dokularındaki hipoksik ortamla yakından ilişkilidir. Oksijen eksikliği ile uyarılan HIF-1 alfa hücrelerde yoğun eksprese edilir (37). Araştırmalar, HIF-1 alfa'nın hipoksiye bağlı kemorezistansta rol oynadığını kanıtlamıştır (38,39). Mao, X. ve ark. çalışmalarında hipoksinin apoptozu hedefleyerek kanser hücrelerinde sisplatine duyarlılığı azalttığını ifade etmişlerdir (40).

2.6.2. Nöroblastoma ve Metformin

Metformin diğer adıyla 1,1-dimetilbiguanid hidroklorür, oral hipoglisemik ajanlara ait bir biguaniddir ve tip 2 diyabetin yanı sıra polikistik over sendromu, metabolik sendrom ve diyabetin önlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (41). Diyabetik hastalarda metformin kullanımı kanser insidansında ve mortalitede azalma ile ilişkilidir (42). Aynı zamanda metforminin birçok kanser türünde hücre proliferasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir (43).

Glikoz birincil enerji kaynağıdır ve hücresel solunum için ana yakıttır. Normal koşullarda glikoz kullanımı için ATP'nin %70'i oksidatif fosforilasyon ile ve %30'u glikoliz ile sentezlenir. Kanser hücrelerinin, bozulmuş aerobik glikoliz ile sonuçlanan mitokondriyal bozukluğunun bir sonucu olarak ortaya çıkabileceği düşünülmektedir (44). Hipoksik koşullarda ise ATP üretimindeki düşük verimliliği telafi etmek için glikoliz artar (45). Yüksek glikoz tüketimi *Warburg* etkisi olarak bilinir. Warburg etkisi, piruvat dehidrojenazı (PDH) inaktive eden HIF-1 alfa ile güçlendirilir. Ayrıca, PDH'nin inhibisyonu, piruvatın asetil coA'ya dönüşümünü azaltarak daha fazla piruvatın laktata dönüştürülmesine izin verir (46–49). Metformin kanser riskini azaltabilse de tümör davranışı üzerindeki etkileri üzerindeki mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır (50). Metformin, kaspaz 3 aktivasyonunu arttırarak apoptoz teşviki ile ilişkilendirilmiştir (51).

Metformin ve 5-FU kombinasyon tedavisi, tümör hücrelerinde Warburg etkisini engelleyici bir etki gösterir (52). Metforminin, AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK) sinyalini aktive ettiği bilinmektedir. AMPK'nin aktivasyonu kanserde sıklıkla aktive olan mTOR yolağının aktivasyonunda rol oynar (53). Ayrıca hipoksi altında hücrelerde HIF-1 alfa aktivasyonunu etkili bir şekilde inhibe eder (54).

2.6.3. Sisplatin ve Metformin Kombine Tedavisi

Sisplatin tedavisi birçok kanser tedavisinin temelidir. Ancak birçok kanser hastasında sisplatine direnç ile nüks gözlenmektedir. HIF-1 alfa'nın stabilitesinin baskılanmasıyla bozulmasının desteklenmesi, metforminin bir etki mekanizmasıdır (55). Bu mekanizmaların, hipoksiye bağlı sisplatin direncinin geliştirilmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. Kanserde sisplatin tedavisinin etkinliğini arttırmak amacıyla kullanımı konusunda mesane kanseri, safra kesesi kanseri, kolanjiyokarsinom, baş boyun kanserleri, kolorektal kanser gibi çeşitli kanser türlerinde etkisi literatürde incelenmiştir.

Bu tez projesi kapsamında hipoksik koşullarda nöroblastom tedavisinde metforminin etkinliği incelenirken, sisplatin ile kombinesinde hücre canlılığına etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Tipi

Bu çalışma, deneysel (*in vitro*) tasarlanmış, tanımlayıcı bir araştırma türüdür.

3.2. Araştırmanın Yeri, Zamanı ve Planı

Bu araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi, Onkoloji Enstitüsü, Translasyonel Onkoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Araştırma Planı

Tarih	**Yapılan Çalışma**
Şubat 2017	Tez önerisi hazırlama, sunulması ve kabulü
Aralık 2019	Tez başlığında değişiklik
	Etik kurul başvurusu ve onaylanması
Kasım 2018	DEU BAP kapsamlarına başvuru yapılması
	Projenin kabul edilmesi ve malzeme alımları
Mart 2019- Mart 2020	Hücre kültürü ve hücrelerin sürdürülmesi
	Hücrelerin ilaçlar ile muamele edilmesi
Nisan 2021- Aralık 2021	Hücre davranışını belirleyen deneylerin yapılması
Ocak-Mayıs 2022	İstatistiksel analizler
	Tez yazım aşaması

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Bu araştırmanın evrenini nöroblastom tümörü oluştururken, örneklemini ticari olarak satın alınan nöroblastom hücre hattı oluşturmaktadır.

3.4. Çalışma Materyali

Bu tez çalışması kapsamında American Type Culture Collection'dan (ATCC®) ticari olarak alınan insandan izole edilmiş metastatik bir kemik tümöründen oluşturulan hücre hattı SK-N-SH'den 3 kez klonlanmış alt hücre hattı olan SH-SY5Y (CRL-2266™) kullanılmıştır.

3.5. Araştırmanın Değişkenleri

Bu araştırmanın bağımsız değişkenleri; hipoksik ortam ve kullanılan ilaçlar (Metformin ve Sisplatin), bağımlı değişkenleri ise; proliferasyon, migrasyon gibi hücre davranışları ve HIF-1α, VEGF rölatif gen ekspresyonlarıdır.

3.6. Veri Toplama Araçları

3.6.1.Kullanılan Malzemeler ve Cihazlar

Tablo 2. Çalışmada kullanılan sarf malzemeler ve cihazlar

Malzeme Adı	Markası/Kodu	Kullanım Amacı
Hipoksik inkübatör	ESCO	
SH-SY5Y nöroblastom hücre hattı	ATCC® CRL-2266TM	Çalışmalarda kullanılan hücre hattı
DMEM/Ham's F12	Biochrom Berlin, Almanya	Hücre hattının kültürlenmesi için gereken besi yeri
Fötal sığır serumu	Cegrogen Biotech GmbH- A0500-3030	Hücrelerin sağlıklı büyümesi için gereken büyüme faktörü
Esansiyel olmayan amino asit	Cegrogen Biotech GmbH- A0500-3030	Kültür ortamında hücrelerin ihtiyacı olan aminoasit kaynağı
L-glutamin (2 mM)	Biochrom, Berlin, Almanya	Kültür ortamındaki bakteriyel kontaminasyonu önlemek

		için eklenen antibiyotik
Penisilin/Streptomisin (10,000 U/ml)	Cegrogen Biotech GmbH- P0100-790	Kültür ortamındaki bakteriyel kontaminasyonu önlemek için eklenen antibiyotik
RNA İzolasyon Kiti	Qiagen RNeasy mini kiti Ref. 74104	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
cDNA Sentez Kiti	Qiagen RT2 First Strand Kit cDNA Ref. 330404	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
Beta Aktin Primeri	Sigma Aldrich	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
NanoDrop spektrofotometre	Mastrogen, Taiwan	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
Rotor gene Q	Corbett Research, Qiagen, Germany	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
SYBR Green PCR MasterMix	Qiagen, Maryland, USA	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
Lizi tamponu	RIPA buffer Cell Signalling, Leiden, The Netherlands	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
HIF1-alfa reverse ve forward primerleri	Sigma Aldrich	PCR uygulaması için gerekli sarf malzeme
BCA protein assay kit	Pierce, Rockford, IL, USA	PCR uygulaması için gerekli sarf
Sisplatin	Koçak Farma	Kemoterapötik
Metformin	Bilim İlaç	Oral-antidiyabetik
WST-1 Reagent	Sigma Aldrich	Sitotoksite kimyasalı

3.6.2. SH-SY5Y Hücre Hattı ile Hücre Kültürü

Araştırmada SH-SY5Y (ATCC® CRL-2266™) nöroblastoma kanser hücre hattı kullanılmıştır. Hücre hattı ATCC (American Type Culture Collection)'den satın

alınmıştır. Bu hücre hattı 1973 yılında 4 yaşındaki kadın bir kanser hastasının kemik iliği tümöründen izole edilen metastatik nöroblastoma hücre hattı olan SK-N-SH (ATCC® HTB-11™)'den elde edilmiştir. SK-N-SH'den alt kültür yöntemi ile ilk olarak SH-SY İnsan kemik iliği dokusundan elde edilen bu hücre hattı epitelyal morfolojiye sahiptir.

SH-SY5Y nöroblastom hücre hattı %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin, %1 L-glutamin, ve %1 esansiyel olmayan aminoasit içeren MEM ve Ham's F12 hücre kültürü ortamında %5 CO_2 ve 37°C'lik inkübatörde, %80 yoğunluğa ulaşıncaya kadar 75 cm^{2}'lik hücre kültürü flasklarında çoğaltılmıştır. Kullanılacak hücreler istenilen yoğunluğa ulaştığında pasajlanmıştır.

Hücre sayımı ve canlılığı, %0,4'lük Tripan mavisi çözeltisi kullanılarak Neubauer lamında mikroskobik olarak ölçülmüştür.

3.6.3. Gerçek Zamanlı Proliferasyon Testleri

SH-SY5Y hücreleri 96 kuyucuklu xCELLigence E-plate'lere her kuyucuk içinde 1×10^{4} hücre olacak şekilde ekilerek 37°C ve 5% CO_2 inkübatörde 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, hücreler Metformin'in farklı konsantrasyonlarına (2-128 mM) 48 ve 72 saat boyunca maruz bırakıldı. Hücre canlılığı, xCELLigence RTCA system (Real-Time Cell Analyzer System, Acea Biosciences Inc., San Diego, CA) üzerinden empedans değişimine bağlı olarak 15 dakikada bir ölçüldü.

3.6.4. Yara İyileşme Modeli

Yara iyileşmesi modeli ile migrasyon tayini çalışmasında 6 kuyucuklu plate içine her bir kuyucuk içinde $6x10^{4}$ hücre olacak şekilde hücreler ekildi. Gece boyu %1 fötal sığır serumu içeren hücre ortamı ile hücreler normoksik ve hipoksik koşullarda inkübe edildiler. Kuyucukların her biri, hücre kolonisinde yara oluşturmak amacıyla, ortadan 100µl pipet ucuyla çizildi. PBS ile yıkama yapıldıktan sonra hücreler 5,10 ve 20 mM Metformin ile muamele edildiler. 24 saatlik inkübasyon süresince 0, 6 ve 12. saatlerde yara iyileşmesini gözlemlemek amacıyla inverted mikroskop (*Carl Zeiss Suzhou Co., Ltd, Axio Vert. A1*) ile görüntü alındı. İşaretlenen bölgelerden alınan görüntüler Image J ver. 1.149 yazılım programı ile ölçüldü.

3.6.5. Gerçek Zamanlı PCR

10 ve 20 mM Metformin ile muamele edilen ve 48 saat boyunca normoksik ve hipoksik ortamda inkübe edilen SH-SY5Y hücre hattı gruplarının RNA'ları, RNA izolasyon kiti kullanılarak izole edildi. Toplam RNA'nın kalitatif ve kantitatif doğrulaması NanoDrop spektrofotometre ile ölçüldü. Ekstraksiyon adımından sonra, her örnek için cDNA sentez kiti kullanılarak 1 µg RNA'dan cDNA sentezlendi. Kantitatif gerçek zamanlı PCR, Rotor Gene Q üzerinde, SYBR Green PCR karışımı kullanılarak, 10 µM primerler üzerinden gerçekleştirildi (Tablo 1). Bağıl RNA seviyelerini normalize etmek için internal kontrol olarak β-aktin geni kullanıldı. Yapılan tüm amplifikasyonlardan sonra, amplifiye edilen son ürünlerin saflığı erime eğrisi analizi ile kontrol edildi. Bağıl mRNA ekspresyon seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu kullanılarak hesaplandı ve Ct değerleri normalize edildi. Tüm tepkimeler aşağıdaki koşullar uygulanarak amplifiye edildi: ilk denatürasyon 95 °C'de 10 dakika, 95 °C'de 15 saniye boyunca ve 60°C'de 30 saniye boyunca toplamda 40 siklus. Erime eğrisi analizi 60°C'den 95°C'ye, her 5 saniyede bir 1°C artacak şekilde uygulanmıştır.

Tablo 3. Çalışmada kullanılan primer antikorlar

Gene	Primer Sequence	Amplicon (bp)
HIF-1α	(F) 5'AAGAACAAAACACACAGCGAAGC-3'	199
	(R) 5'-TCACAAATCAGCACCAAGCAGG-3'	
PDK-1	(F) 5′- CAACAGAGGTGTTTACCCCC-3′	105
	(R) 5′-ATTTTCCTCAAAGGAACGCC-3′	
VEGF-A	Qiagen RT² qPCR Primer Assays (cat no. PPH00251C)	71
GLUT-1	Qiagen RT² qPCR Primer Assays (cat no. PPH02043C)	96
ACTB (β-ACTIN)	Qiagen RT² qPCR Primer Assays (cat no. PPH00073G)	154

3.6.6. Western Blot

T25 flasklara ekilen 10^6 SH-SY5Y hücre hattı 48 saat boyunca hipoksik ve normoksik koşullarda 5, 10 ve 20 mM Metformin ile inkübe edildi. Buz soğukluğunda, içinde 1 mM PMSF bulunan 1x liziz tamponu ile hücreler buz ve sonikatör üzerinde 5 dakika boyunca tutularak lizize uğratıldı. Oluşan lizat, 14000 g devirde 15 dakika boyunca 4°C'de santrifüjlendi. Protein konsantrasyonları BCA protein tayin kiti ile tayin edildi. Her kuyucukta 20 µg olacak şekilde hazırlanan eşit miktarlardaki protein örnekleri proksidaz konjuge ikincil antikorlara yüklendi. Elde edilen görüntüler UVP bioimaging system ile ve oluşan bant kalınlıkları ise UVP LabWorks 4.6 Image Acquisition yazılımı ile ölçüldü. Bağıl protein seviyeleri α-aktinin seviyesi baz alınarak hesaplandı.

3.6.7. İlaç Sitotoksisite Deneyi

SH-SY5Y hücre hattı üzerinde Metformin ve Sisplatin'in spesifik bağlanmasını %50 oranında inhibe eden konsantrasyonun (IC_{50}) bulunabilmesi için WST-1 (4-[3-(4-iyodofenil)- 2-(4-nitrofenil)-2H-5-tetrazolio]-1,3-benzen disulfonat) reaktifi kullanılmıştır. Bunun için, 96 kuyucuklu plakalara 3 tekrarlı olacak şekilde hücreler ekilmiştir. Her kuyucuk,100 µl hücre ortamı içerisinde $1x10^4$ hücre içermektedir. Hücrelerin plakaların yüzeyine tutunabilmeleri için 24 saat CO_2 inkübatöründe

inkübe edilmiştir. Daha sonra farklı konsantrasyonlarda Metformin (64-84 mM), Sisplatin (1-5uM) 100 µl hücre ortamı içerisinde plakalara verilmiştir. Bunlara ek olarak pozitif kontrol ve negatif kontrol grupları oluşturulmuştur. 96 kuyulu plakalar 48-72 saat CO2 inkübatöründe inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda ışıktan uzak ortamda her kuyucuğa 10 µl WST-1 reaktifi eklenmiştir ve 2-4 saat CO2 inkübatöründe inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda plaka okuyucu da uygun dalga boyunda absorbans ölçümü alınmıştır. Her ajana ait IC_{50}, % canlılık ve % sitotoksisite hesaplanmıştır. Bu hesaplama yapılırken GraphPad 8.0 software kullanılmıştır. Aynı basamaklar hipoksik koşullarda tekrarlanmıştır.

3.7.Verilerin Değerlendirilmesi

Verilerin analizi için Statistical Package for Social Science version 24.0 (SPSS for Windows Inc, Chicago, IL, ABD) kullanılmıştır. Sayımla belirtilen değişkenlerin analizinde ki-kare testi ve Fisher kesin test, ölçümle belirtilen değişkenlerin analizinde normal dağılıma uygunluk durumuna göre t-testi ya da Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. $p \leq 0,05$'in altında olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3.8.Araştırmanın Kısıtlılıkları

Araştırma *in vitro* hücre kültürü ve ilaç çalışmaları içermektedir. Bu yüzden tüm *in vitro* sistemler için geçerli olan in vivo sistemleri kapsamamaktadır. Araştırmanın kısıtlılığı in vivo sistemlerdeki gibi metabolizma ve immün etkilerden yoksun olmasıdır.

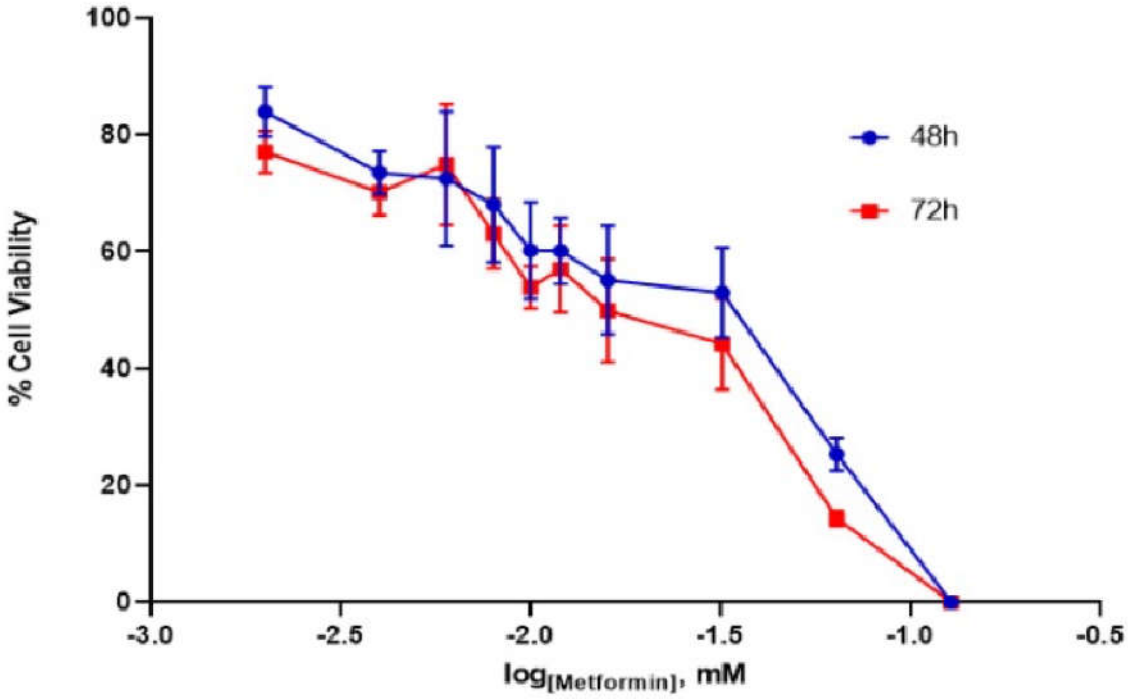
3.9. Etik Kurul Onayı

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu 14.10.2019 tarih ve 2019/25-22 karar numaralı "In vitro Nöroblastom Modelinde Hipoksinin Tümör Davranışı Üzerine Etkisi" başlıklı proje ile etik onayı alınmıştır. Bu proje Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri 2017.KB.SAG.016 proje numarası ile desteklenmiştir.

4. BULGULAR

4.1.Metforminin Hücre Canlılığı Üzerindeki Etkisi

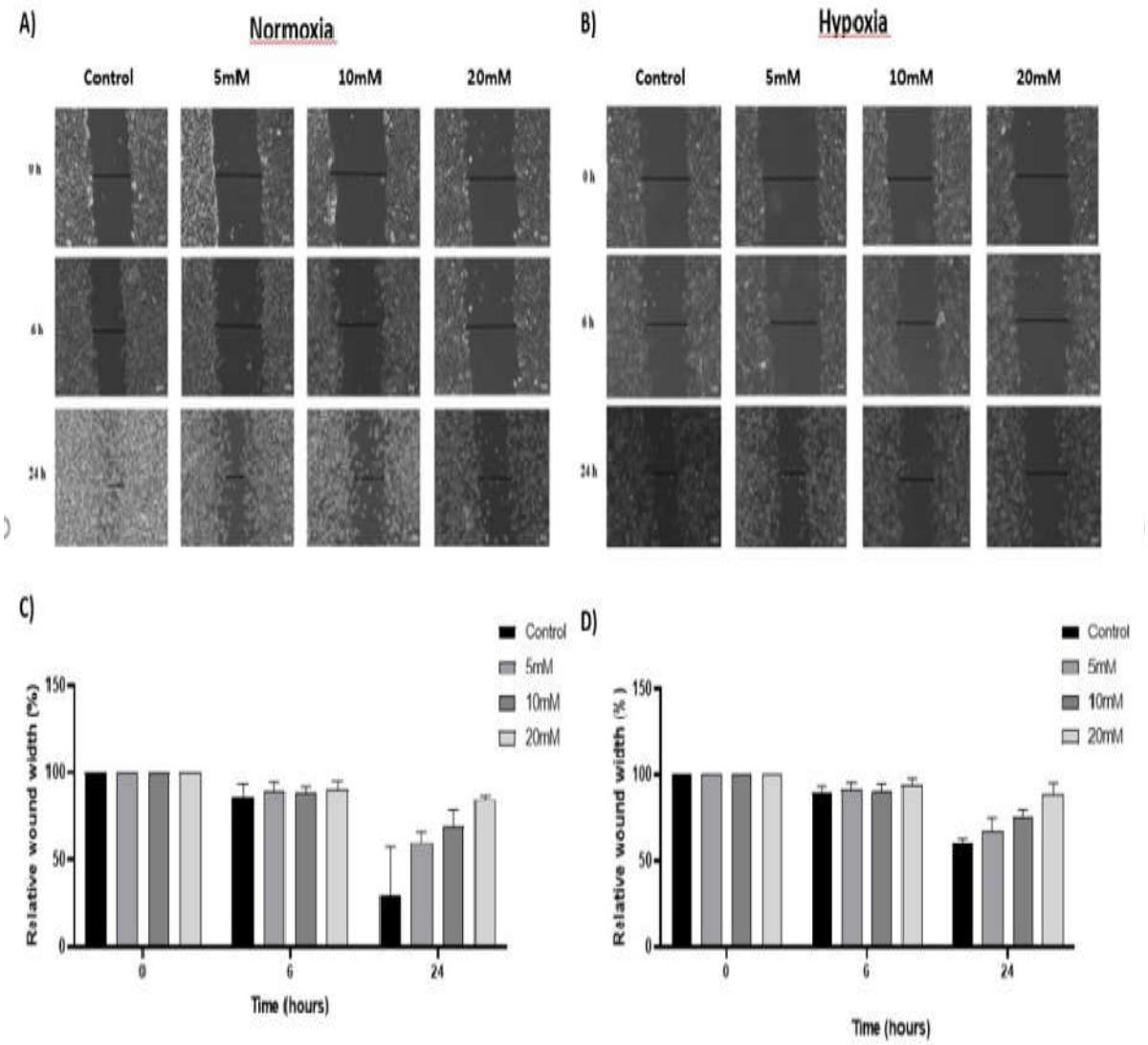
Metforminin hücre canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla SH-SY5Y hücre hattı, 72 saat boyunca 2-128 mM metformin ile muamele edilmiştir. Bu hücre hattı üzerinde metforminin doz bağımlı sitotoksik etkisi, 48 saat için 20mM ve 72 saat için 14mM olarak bulunmuştur (Figür 1).



Şekil 1. Metformin muamelesi edilmiş SH-SY5Y hücre hattının yüzde hücre canlılık grafiği.

4.2.Metforminin Migrasyon Üzerindeki Etkisi

Metforminin migrasyon üzerindeki etkisini gözlemlemek için SH-SY5Y hücre hattı üzerinde yara iyileşme modeli uygulanmıştır. Buna göre metformin 0. andan 24. saate kadar, kontrole kıyasla doza bağımlı olarak, normoksik ve hipoksik koşullarda migrasyonu azaltmıştır (Figür 2).

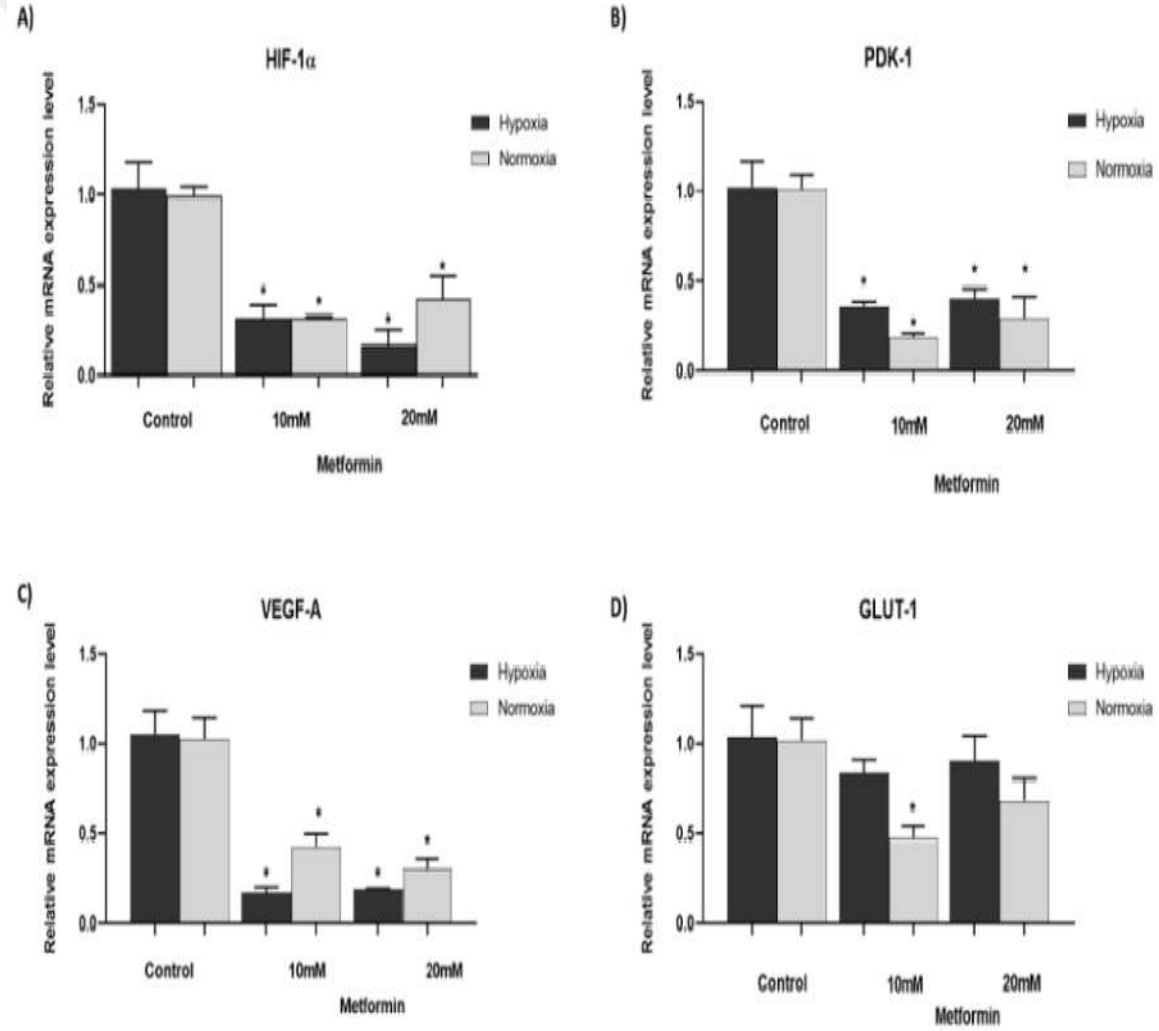


Şekil 2. Metforminin hipoksik ve normoksik koşullarda hücre migrasyonuna etkisini gösterek grafik

SH-SY5Y hücre hattı için migrasyon, normoksi (A ve C) ve hipoksi (B ve D) altında yara iyileşme deneyi ile analiz edildi. SH-SY5Y hücreleri, farklı Metformin konsantrasyonlarında (5, 10 ve 20 mM) kültüre edildi. Hücre göçü mikroskop ile gözlemlenerek ve 0, 6 ve 12 saatlerde görüntüleri alındı. Normoksi ve hipoksi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmedi.

4.3.Metformin, HIF-1α'nın ve Hedef Genlerinin Transkripsiyon Aktivitesini İnhibe Eder

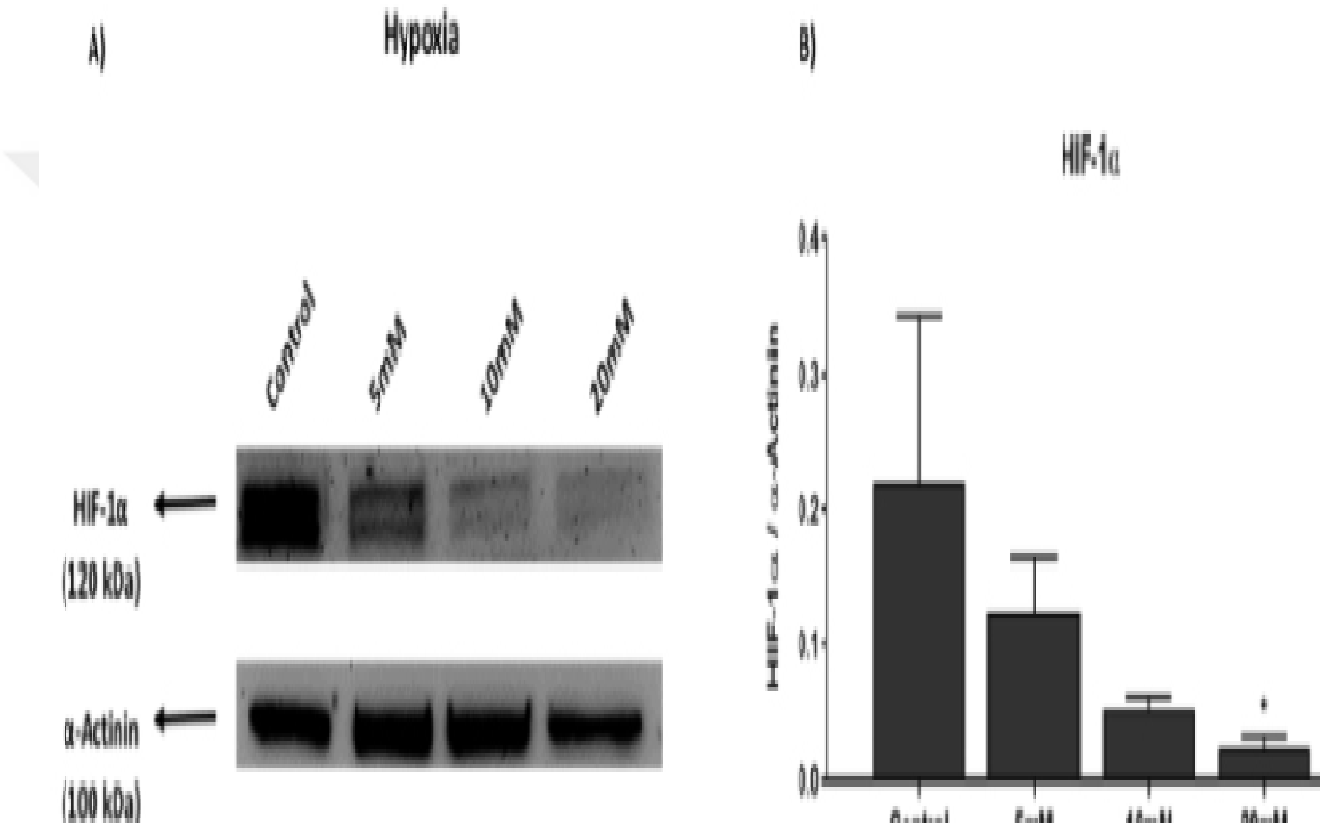
Normoksik ve hipoksik koşullarda, metforminin 10 ve 20 mM derişimlerinde HIF-1α, PDK-1, VEGF-A ve GLUT-1 mRNA ekspresyon seviyelerinin kantitatif tayini real-time qPCR ile gerçekleştirilmiştir. Hem normoksik hem hipoksik koşullarda uygulanan metformin, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında SH-SY5Y hücre hattının HIF-1α, PDK-1, VEGF-A mRNA ekspresyonunda ciddi azalmaya neden olmuştur ($p<0,05$) (figür 3). Normoksik koşullarda uygulanan 10mM metformin dışında GLUT-1 mRNA ekspresyon seviyesinde istatistiksel olarak değişim gözlenmemiştir.



Şekil 3. Metforminin, normoksi ve hipoksi altında HIF-1α (A), PDK-1 (B), VEGF-A (C) ve GLUT-1 (D) mRNA ekspresyon seviyesi üzerindeki etkileri.

4.4. Metformin, HIF-1α ve Hedef Moleküllerinin Protein Seviyelerini Baskılar

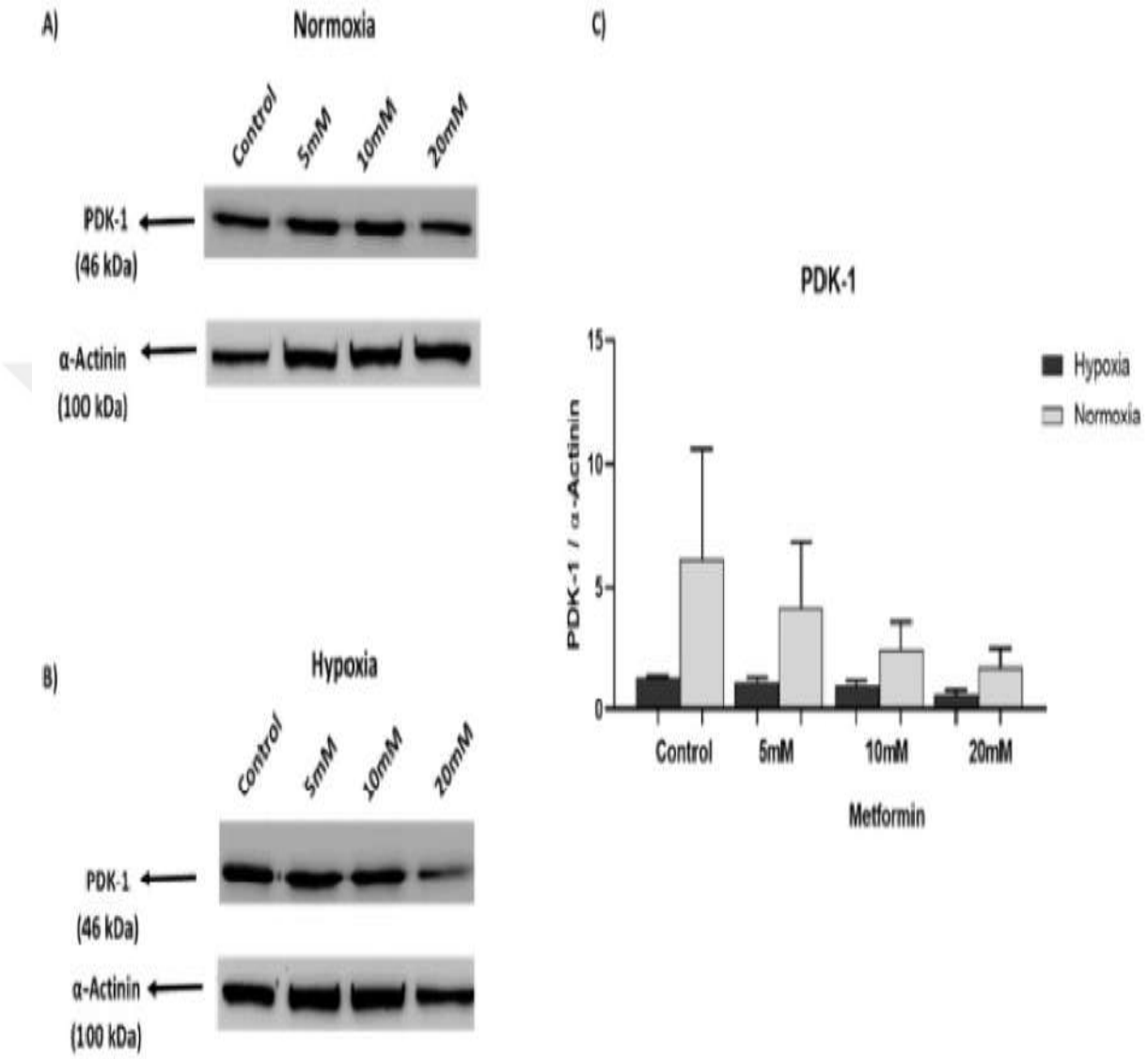
HIF-1α, PDK-1, VEGF-A ve GLUT-1 protein seviyeleri Western Blot tekniğiyle ölçüldü. Metformin'in (5, 10 ve 20 mM), hipoksik ortam kontrolüne kıyasla, doza bağlı bir şekilde HIF-1 protein ekspresyonunu önemli ölçüde inhibe ettiğini doğruladık (Figür 4A, B).



Şekil 4. Metforminin HIF-1 alfa ekspresyonuna etkisinin incelenmesi

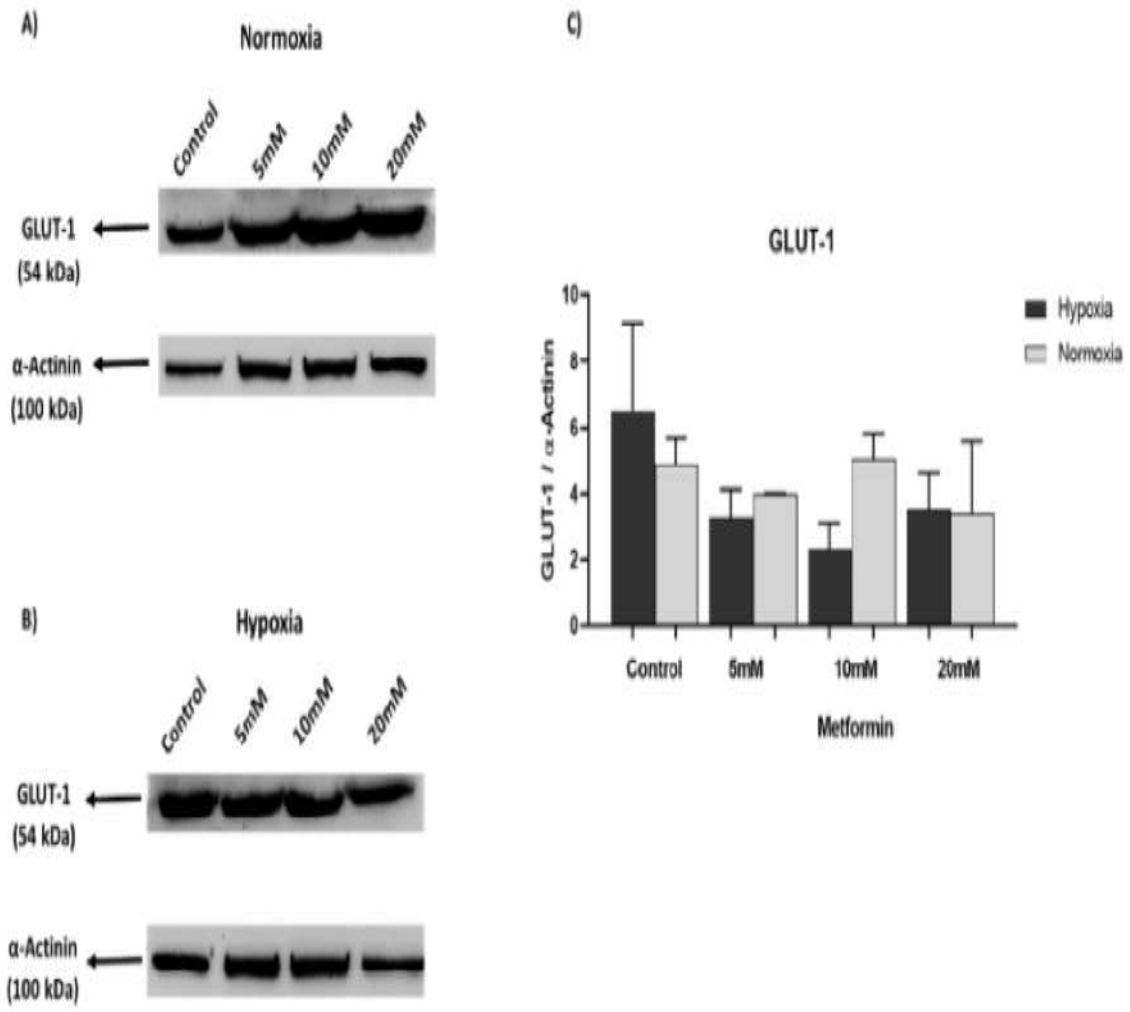
HIF-1α'nın protein ekspresyon seviyesi Western Blot ile tespit edildi. Hücreler, hipoksik koşullar altında 48 saat Metformin ile tedavi edildi. Tüm hücre lizatları (20µg) yüklendi ve Figür 4. (A) ve (B) 'de gösterilen hipoksi altında bir anti-HIF-1α ile Western Blot analizine tabi tutuldu.

Normoksik ve hipoksik koşullar altında Metformin tedavisinden sonra PDK-1 protein seviyesi düşmüştür (figür 5A, B ve C).



Şekil 5. (A), (B) ve (C) 'de gösterilen normoksi ve hipoksi altında SH-SY5Y hücrelerinde PDK-1 protein seviyesinin ekspresyonunu değerlendirmek için Western Blot yapıldı.

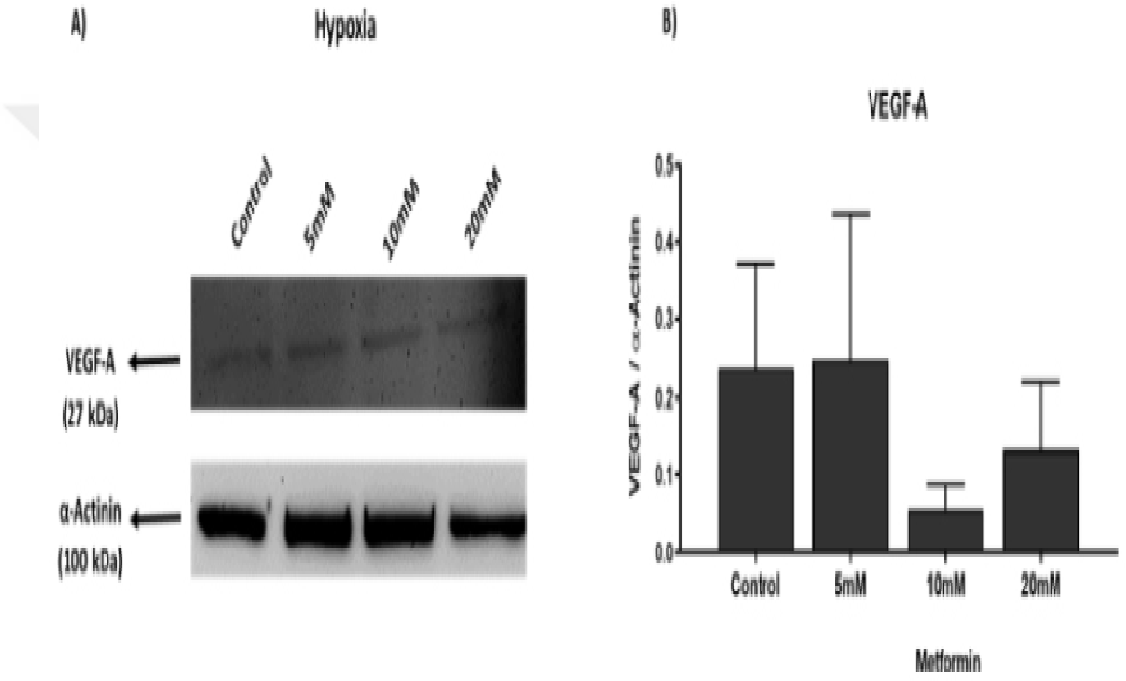
Metformin ile HIF-1α'nın bu inhibisyonunun aşağı regüle proteinlerini etkileyip etkilemediğini belirlemek için, VEGF-A ve GLUT-1, normoksi ve hipoksi altında Western Blot ile kontrol edildi (figür 6 ve 7). 5mM derişime sahip Metformin, SH-SY5Y hücre hattı VEGF-A protein ekspresyonunu inhibe ederken (figür 7B), GLUT-1 protein seviyesi hipoksik koşullardaki metformin muamelesiyle azalış göstermiştir (Figür 6B, C).



Şekil 6. Metforminin (A), (B) ve (C) 'de gösterilen normoksi ve hipoksi altında SH-SY5Y hücrelerinde GLUT-1 protein ekspresyon seviyeleri üzerindeki etkileri.

4.6. Normoksik ve Hipoksik Koşullarda SH-SY5Y Hücre Hattında Metformin ve Sisplatin Kombine Tedavisinin Sitotoksik Etkisi

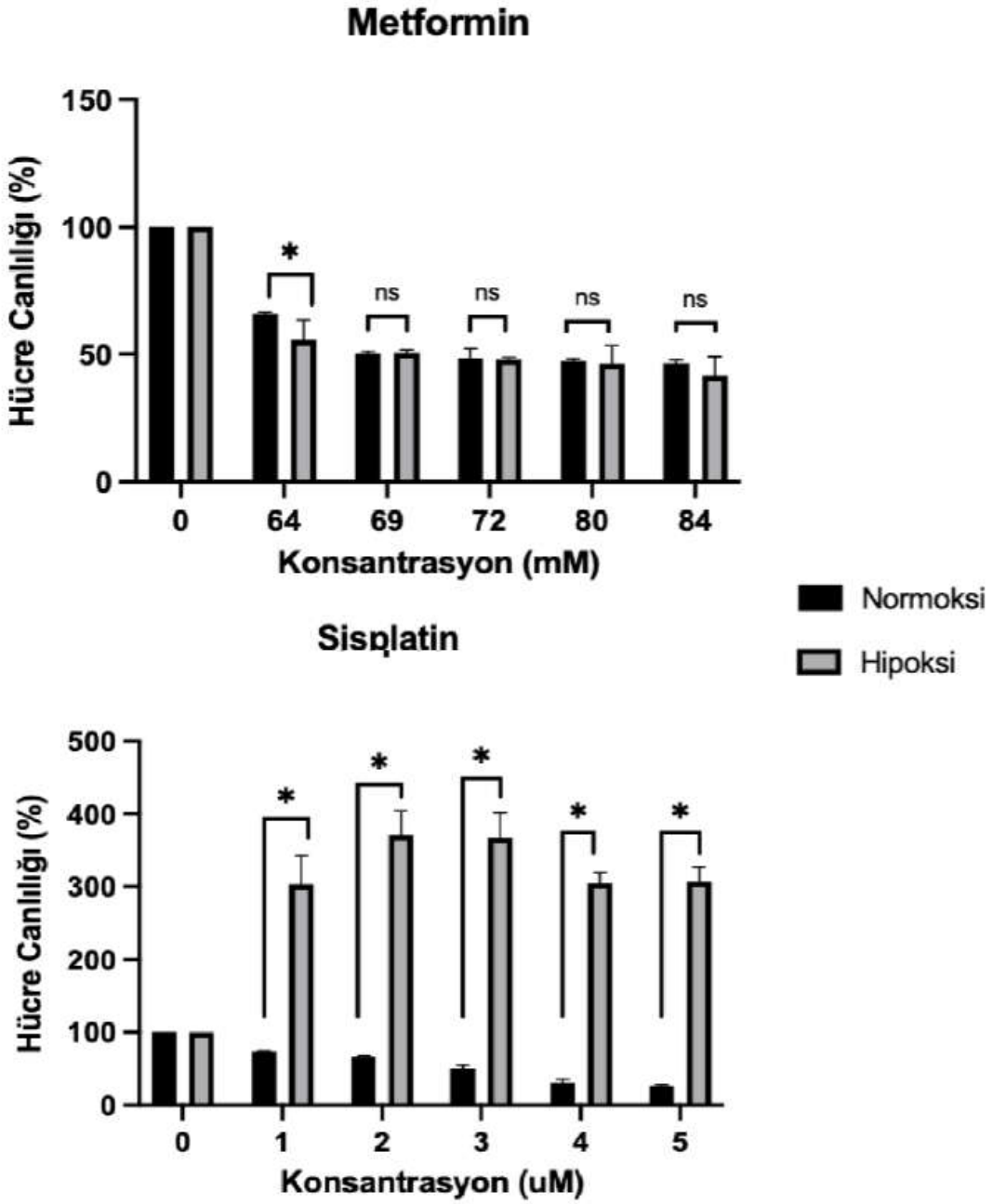
Metformin ve sisplatinin hücre canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla SH-SY5Y hücre hattı, normoksik ve hipoksik koşullarda 48 saat boyunca metforminin IC50 dozu olan 69mM ve sisplatinin 1-5uM dozları ile 1:1 oranında muamele edilmiştir.



Şekil 7. VEGF-A proteini, (A) ve (B) 'de gösterilen hipoksi altında metformin ile muamele edilmiş SH-SY5Y hücreleri ile Western Blot yoluyla analiz edildi.

4.5.Normoksik ve Hipoksik Koşullarda SH-SY5Y Hücre Hattında Tekli Metformin ve Tekli Sisplatin Tedavisinin Sitotoksik Etkisi

Metformin ve sisplatinin hücre canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla SH-SY5Y hücre hattı, normoksik ve hipoksik koşullarda 48 saat boyunca 64-84 mM metformin ve 1-5uM sisplatin ile muamele edilmiştir. Bu hücre hattı üzerinde metforminin doz bağımlı sitotoksik etkisi, normoksik koşullarda 48 saat için 69 mM olarak bulunurken sisplatinin doz bağımlı sitotoksik etkisi, 48 saat için 3uM olarak bulunmuştur.



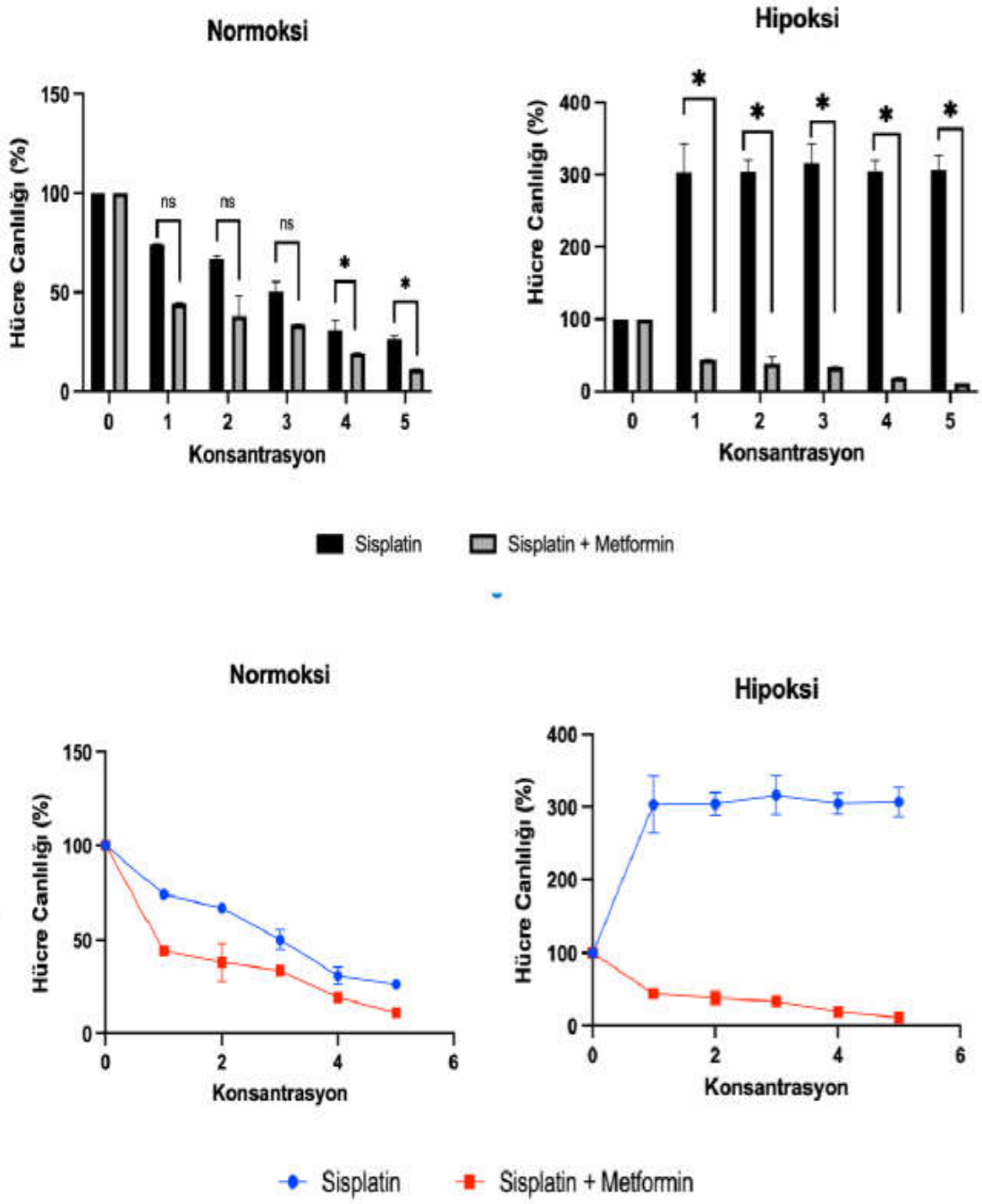
Şekil 8. Normoksik ve hipoksik koşullarda tekli Metformin ve Sisplatin ile muamele edilmiş SH-SY5Y hücre hattının yüzde hücre canlılık grafiği.

Metforminin hücre canlılığı üzerinde normoksik veya hipoksik mikroçevreye bağlı istatiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. Sisplatinin ise normoksik

mikroçevrede sitotoksik etkisi görülürken, hipoksik mikroçevrede hücre canlılığını arttırdığı görülmüştür. (Şekil 8.)

4.6. Normoksik ve Hipoksik Koşullarda SH-SY5Y Hücre Hattında Metformin ve Sisplatin Kombine Tedavisinin Sitotoksik Etkisi

Metformin ve sisplatinin hücre canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla SH-SY5Y hücre hattı, normoksik ve hipoksik koşullarda 48 saat boyunca metforminin IC50 dozu olan 69mM ve sisplatinin 1-5uM dozları ile 1:1 oranında muamele edilmiştir.



Şekil 9. Normoksik ve hipoksik koşullarda tekli Sisplatin ve Metformin - Sisplatin kombinasyonu ile muamele edilmiş SH-SY5Y hücre hattının yüzde hücre canlılık grafiği.

Sisplatinin tekli tedavisinde, mikroçevre değişiminin hücre canlılığına etkisi gözlenmiştir. Hipoksik koşullarda sisplatinin sitotoksik etkisi azalırken, metformin ile kombinasyonunda sitotoksik etkisi artmıştır. Aynı dozda farklı mikroçevrelerde hücre canlılığı arasında istatiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmiştir. (Şekil 9.)

5. TARTIŞMA

Nöroblastoma, klinik çeşitliliği bakımından dikkat çekici bir kanser çeşididir. Birkaç yıl boyunca, belirli biyolojik ve klinik yönlerin yokluğunda veya varlığında bulunan özel tedaviler, hayatta kalma sonuçlarına yol açan düşük veya orta risk olarak sınıflandırılan hastalar için uygulanmıştır. Yüksek riskli nöroblastoma için tedavi iyileştirmeleri, bu hastalar için sonuçlar henüz zayıf kalsa da uzun vadeli sağkalım %50'den küçüktür (56). Çocukluk çağında ortaya çıkan nöroblastik tümörler biyolojik heterojeniteye sahiptir ve farklı tedavi stratejilerine ihtiyaç duyar. Olumlu biyolojik özellikli tümörlerin azaltılmış terapötik yoğunluk ile tedavi edilmesi açık bir eğilimdir. Günümüzde araştırmacılar, tümör hücrelerindeki mikroçevre ve onkojenik özelliklere dayanan yeni tedaviler keşfetmeye çalışmaktadır (57). Hipoksik mikroçevre, büyük bir hipoksik mikroçevreye sahip nöroblastoma gibi katı tümörler için kritik bir role sahiptir. Hipoksinin ana düzenleyici faktörü, nöroblastomda yukarı regüle edildiği bildirilen HIF-1α'dır (58). Antidiyabetik bir ajan olan metformin, mitokondri kompleks-1'i inhibe eder ve son çalışmalar, metforminin kolorektal kanser, meme kanseri ve osteosarkom gibi farklı kanser türlerinde HIF-1α seviyelerini inhibe ettiğini göstermiştir (59).

Mevcut çalışmada, Metformin'in SH-SY5Y hücre hattında HIF-1α ve aşağı akış moleküllerinin PDK-1, GLUT-1 ve VEGF-A gibi ekspresyon seviyelerini düşürdüğünü tespit edildi. Metformin'in hücre canlılığı ve migrasyon üzerindeki antikanser özellikleri incelendiğinde hücre canlılığını doza bağımlı olarak azalttığı gözlenmiştir.

Metformin'in proliferasyon üzerindeki inhibisyon dozu literatürle uyumlu bulunmuştur. Costa D. Ve arkadaşlarının gerçekleştirmiş olduğu çalışmada 48 saat boyunca 20 mM'lık Metformin muamelesine tabi tutulan SH-SY5Y ve SKNBE2 hücre hatlarının proliferasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir (60). Mouhieddine T.H. ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği bir çalışmada ise metformin'in SH-SY5Y ve U251 hücre hatları üzerinde proliferasyonu inhibe eden etki gösterdiği kanıtlanmıştır. SH-SY5Y hücre hattı için 10mM'lık Metformin'in 72 saatteki inhibitör etkisi yaklaşık olarak %50 canlılıkla sonuçlanmıştır (61,62).

Mevcut çalışmadan SH-SY5Y hücre hattı için elde edilen migrasyon sonuçları da literatürde bulunan diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Metformin ile muamele

edilmemiş SH-SY5Y hücre hattında 48 saatte tamamen yara iyileşmesi gözlenmezken, Metformin muamelesi bu oranı belirgin bir şekilde azaltmıştır. Literatürdeki bir çalışmada metformin muamelesi bulunmayan SH-SY5Y hücre hattı grubundaki 48 saatlik yara iyileşmesi tamamen gerçekleşmemekle birlikte, metformin'in migrasyon derecesini belirli şekilde azalttığı kanıtlanmıştır (61). Başka bir çalışmada ise SH-SY5Y hücre hattının hipoksik ortamda HIF- 1α'nın yıkılmasıyla migrasyonun inhibe edildiği gösterilmiştir (63).

Bu çalışmada SH-SY5Y hücre hattında HIF- 1α'nın hem gen hem protein ekspresyonu metformin ile doza bağımlı bir şekilde azaltılmıştır. Aynı zamanda VEGF-A'daki azalma da çalışma sonucunda gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatür ile de uyumludur. Birçok çalışmada, metforminin kanser hücre hatları üzerinde HIF-1α stabilitesini inhibe ettiği, VEGF-A dahil olmak üzere HIF-1 hedefli gen ekspresyonu seviyelerini azalttığı, azalmış mikrodamar yoğunluğu ve küçük tümör damarı boyutu ile tanımlanan büyüme inhibisyonuna yol açtığı kanıtlanmıştır (64–67).

Mevcut çalışma, metforminin SH-SY5Y hücre hattı üzerinde PDK-1 gen ve protein seviyelerinde doza bağımlı olarak hipoksik ve normoksik koşullarda ekspresyon seviyelerini azalttığını göstermiştir. Ayrıca diğer çalışmalarla paralel olarak HIF-1α'nın PDK-1 ile bağlantısı çalışma sonuçlarımızda gösterilmiştir.

Bir çalışmada, HIF-1α, birçok glikolitik enzimi, glikoz taşıyıcısını kodlayan genlerin transkripsiyonunu indükler ve glikozdan türetilen piruvatın trikarboksilik asit (TCA) döngüsüne akışını azaltan PDK'leri aktive eder (68).

Bu çalışmada, GLUT-1 gen ve protein ekspresyon seviyelerinin hem normoksik hem de hipoksik koşullarda metformin tarafından etkilenmediği gözlenmiştir. SH-SY5Y hücre hattında GLUT-1 seviyesine metforminin etkisi farklılık göstermektedir. Chaube ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada, kanser hücrelerinde GLUT1 gibi glikolitik moleküllerden biri olan önemli moleküllerin protein seviyelerini yükseltmede metforminin etkisi ispatlanmıştır (69). Başka bir çalışmada ise metforminin bu plazma membran taşıyıcısının total protein seviyesine veya gen seviyelerine etki etmediği ve GLUT ailesinin kanser üzerindeki metformin kaynaklı azalmasını elimine ettiği gösterilmiştir (70).

Kanser hücrelerinin metabolizmasının ve mikroçevresinin önemli regülatörlerinden olan HIF-1α, PDK-1 ve VEGF-A üzerinde metforminin etkin olduğu bulunmuştur. Bu anlamda metforminin kemoterapötik ajan olarak büyük potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir.

Kanser tedavisinde sisplatinin etkinliği gerek literatüre bakıldığında gerek bu çalışma sonuçlarına bakıldığında tartışmasız kabul görmektedir. Ancak, ilaç direnci, kanserli hastalarda ideal terapötik etkileri sınırlayan önemli bir engel olmaya devam etmektedir (71). Son yıllarda, ilaç direncini azaltmak ve dirence daha az duyarlı yeni tedaviler geliştirmek için pek çok çalışma yapılmıştır. İlaç direncinin mekanizması, değişen ilaç bölgeleri, daha etkili DNA onarım mekanizmaları, ilaç akışı ve metabolizması, farmokokinetik, tümör mikroçevresi ve ilaca maruz kalmaya yanıt olarak stres kaynaklı genetik ve epigenetik değişiklikler dahil olmak üzere çeşitli faktörlerle atfedilebilir (72). Karsinogenez, tümör dokularındaki hipoksik mikroçevre ile ilişkilidir. Bu bağlamda nöroblastom gibi hipoksik mikroçevreye sahip tümörlerde bu tedavinin in vitro değerlendirilmesi hipoksik mikroçevre koşulları dikkate alınarak yapılmalıdır. Bu çalışmamızda da doğrulandığı gibi hipoksik mikroçevrede, oksijen yoksunluğu ile birlikte uyarılan HIF-1 alfa'nın dokularda ve hücrelerde yaygın olarak eksprese edilir. Son literatüre göre, kemorezistans büyük ölçüde HIF-1 alfa'nın ekspresyonu ve aktivasyonunundan kaynaklanmaktadır (73). Chen., J ve ark. yaptığı çalışmada 3 farklı tümör hücre hattı ve aynı hücre hatlarından türetilmiş sisplatine dirençli hücre hatları aynı koşullarda inkübe edilmiş. Western blot ve immünofloresan yöntemleriyle HIF-1 alfa varlığına bakıldığında dirençli hücre gruplarında HIF-1 alfa ekspresyonunun dirençsiz hücre hattı gruplarına göre daha fazla olduğu gözlenmiş (74). Bu nedenle, HIF-1 alfa ekspresyonunun hedeflenmesi, kanser tedavisi için yeni bir terapötik stratejidir.

HIF-1 alfa, glikoz alımı ve anjiyogenezle ilişkili alt birimlerden oluşan heterodimerik bir transkripsiyon faktörüdür. Guimaraes ve ark. tarafından metforminin HIF-1 alfayı inhibe edebildiğini ve skuamöz hücreli karsinomda hücre ölümünde bir artışa yol açtığını göstermiştir (75). Zhou ve ark. metforminin hepatoselüler karsinoma HepG2 hücrelerinde arttırılmış hücresel oksijenasyon kapasitesinin inhibisyonu yoluyla HIF-1 alfa ekspresyonunu engelleyebileceğini göstermişlerdir (76). Bununla birlikte Ye, J ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada metforminin HIF-1 alfa/VEGF yolunu

hedefleyerek hipoksi kaynaklı davranışı tersine çevirdiği gösterilmiştir (77). Literatüre bakıldığında, kanıtlar metforminin kemoterapötik ajanların etkisini güçlendirebileceği doğrulanmış olup SH-SY5Y nöroblastom hücre hattında böyle bir kanıt ve çalışma bulunmamaktadır. Bulgulara benzer şekilde bu çalışmada SH-SY5Y nöroblastom hücre hattında normoksik koşullara kıyasla hipoksik koşullarda sisplatinin sitotoksik etkisi HIF-1 alfa varlığına bağlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Aynı koşullarda sisplatin tedavisine metformin kombinasyonu eklendiğinde ise HIF-1 alfa varlığını inhibe ederek sisplatinin etkinliğini arttırdığı kanıtlanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

SH-SY5Y Nöroblastom hücre hattında hipoksik ve normoksik koşullarda tümör davranışları incelenmiştir. Metforminin bu hücre davranışlarına etkisine bakıldığında, hipoksik mikroçevrede kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Metforminin, hipoksik mikroçevrede SH-SY5Y hücre hattında proliferasyon ve migrasyon yeteneğini azalttığı gözlenmiştir. HIF-1 alfa, VEGF ve PDK-1 ekspresyon seviyeleri gen ve protein seviyesinde incelendiğinde literatürle benzer şekilde ekspresyonun inhibe edildiği bulunmuştur. Normoksik koşullarda nöroblastom tedavisinde etkili olduğu bilinen sisplatinin HIF-1 alfa varlığında duyarsızlaştığı da yapılan analizler sonucunda gösterilmiştir. Metforminin HIF-1 alfa ekspresyonunu inhibe etmesiyle sisplatinin etkinliğini arttıracağı hipotezi yapılan sitotoksik incelemeler sonucunda kanıtlanmıştır. Literatürde kanser tedavisinde metformin ve sisplatinin kombine tedavi olarak kullanılmasına yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Fakat SH-SY5Y nöroblastom hücre hattı üzerinde böyle bir çalışma bulunmamaktadır. Bundan dolayı bu alanda tüm tümör davranışlarının incelendiği yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Neirinckx V, Forsyth Copenhaver P, Theiss C, Castellani V, Delloye-Bourgeois C. Hijacking of Embryonic Programs by Neural Crest-Derived Neuroblastoma: From Physiological Migration to Metastatic Dissemination. 2019; Available from: www.frontiersin.org
2. Gurney JG, Davis S, Gurney JG, Davis S, Severson RK, Robison LL. The Influence of Subsequent Neoplasms on Incidence Trends in Childhood Cancer. Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention. 1994 Jun 1;3(4):349–51.
3. Tsubota S, Kadomatsu K. Origin and initiation mechanisms of neuroblastoma. Available from: https://doi.org/10.1007/s00441-018-2796-z
4. Barr EK, Applebaum MA. Genetic Predisposition to Neuroblastoma. Children (Basel) [Internet]. 2018 Aug 31 [cited 2022 May 18];5(9). Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30200332
5. Çocukların N, Özellikleri K. Gün cel Pe di at ri Öz gün Arafl t›r ma/Ori gi nal Ar tic le.
6. Gatta G, Capocaccia R, Coleman MP, Gloeckler Ries LA, Berrino F. Childhood Cancer Survival in Europe and the United States BACKGROUND. Survival rates for most major adult cancers are higher in the United. 2002;
7. Vaupel P, Mayer A, Höckel M. Tumor Hypoxia and Malignant Progression. Methods in Enzymology. 2004;381:335–54.
8. Siemann DW, Horsman MR. Modulation of the tumor vasculature and oxygenation to improve therapy. Pharmacology and Therapeutics [Internet]. 2015 Aug 4 [cited 2022 May 18];153:107–24. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.06.006
9. Nakagawara NA, Li Y, Izumi H, Muramori K, Inada H, Nishi M. (No Title). JJCO Japanese Journal of Clinical Oncology Japanese Journal of Clinical Oncology [Internet]. 2018;48(3):214–41. Available from: https://academic.oup.com/jjco/article/48/3/214/4825045
10. Cohn SL, Pearson ADJ, London WB, Monclair T, Ambros PF, Brodeur GM, et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: An INRG task force report. Journal of Clinical Oncology. 2009 Jan 10;27(2):289–97.

11. Schleiermacher G, Mosseri V, London WB, Maris JM, Brodeur GM, Attiyeh E, et al. Segmental chromosomal alterations have prognostic impact in neuroblastoma: a report from the INRG project. British Journal of Cancer [Internet]. 2012; Available from: www.bjcancer.com
12. Defferrari R, Mazzocco K, Ambros IM, Ambros PF, Bedwell C, Beiske K, et al. Influence of segmental chromosome abnormalities on survival in children over the age of 12 months with unresectable localised peripheral neuroblastic tumours without MYCN amplification. British Journal of Cancer [Internet]. 2015; Available from: www.bjcancer.com
13. Kreissman SG, Seeger RC, Matthay KK, London WB, Sposto R, Grupp SA, et al. Purged versus non-purged peripheral blood stem-cell transplantation for high-risk neuroblastoma (COG A3973): A randomised phase 3 trial. The Lancet Oncology [Internet]. 2013 Sep [cited 2022 May 18];14(10):999–1008. Available from: www.thelancet.com/oncology
14. Nakazawa MS, Eisinger-Mathason TSK, Sadri N, Ochocki JD, Gade TPF, Amin RK, et al. Epigenetic re-expression of HIF-2α suppresses soft tissue sarcoma growth. Nature Communications 2016 7:1 [Internet]. 2016 Feb 3 [cited 2022 May 18];7(1):1–13. Available from: https://www.nature.com/articles/ncomms10539
15. White PS, Thompson PM, Gotoh T, Okawa ER, Igarashi J, Kok M, et al. Definition and characterization of a region of 1p36.3 consistently deleted in neuroblastoma. Oncogene [Internet]. 2005;24:2684–94. Available from: www.nature.com/onc
16. Torres-Guzmán R, Calsina B, Hermoso A, Baquero C, Alvarez B, Amat J, et al. Preclinical characterization of abemaciclib in hormone receptor positive breast cancer. Oncotarget [Internet]. 2017 May 10 [cited 2022 May 18];8(41):69493–507. Available from: https://www.oncotarget.com/article/17778/text/
17. Schmitt-Hoffner F, van Rijn S, Toprak UH, Mauermann M, Rosemann F, Heit-Mondrzyk A, et al. FOXR2 Stabilizes MYCN Protein and Identifies Non-MYCN-Amplified Neuroblastoma Patients With Unfavorable Outcome [Internet]. Vol. 39, J Clin Oncol. 2021. Available from: https://doi.org/10.
18. Bresler SC, Weiser DA, Huwe PJ, Park JH, Krytska K, Ryles H, et al. ALK Mutations Confer Differential Oncogenic Activation and Sensitivity to ALK Inhibition Therapy in Neuroblastoma. Cancer Cell [Internet]. 2014 Nov 10 [cited

2022 May 18];26(5):682–94. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.ccell.2014.09.019

19. Brodeur GM. Neuroblastoma: biological insights into a clinical enigma. Nat Rev Cancer [Internet]. 2003 Mar [cited 2022 May 18];3(3):203–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12612655/
20. Jennings RW, LaQuaglia MP, Leong K, Hardy Hendren W, Scott Adzick N. Fetal neuroblastoma: Prenatal diagnosis and natural history. Journal of Pediatric Surgery. 1993 Sep 1;28(9):1168–74.
21. Monsaingeon M, Perel Y, Simonnet G, Corcuff JB. Comparative values of catecholamines and metabolites for the diagnosis of neuroblastoma. Eur J Pediatr [Internet]. 2003 Jun 1 [cited 2022 May 18];162(6):397–402. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12684897/
22. Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F, Carlsen NLT, Castel V, Castleberry RP, et al. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. J Clin Oncol [Internet]. 1993 [cited 2022 May 18];11(8):1466–77. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8336186/
23. Brodeur GM, Seeger RC, Barrett A, Berthold F, Castleberry RP, D'Angio G, et al. International criteria for diagnosis, staging, and response to treatment in patients with neuroblastoma. J Clin Oncol [Internet]. 1988 [cited 2022 May 18];6(12):1874–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3199170/
24. Zhang P, Yao Q, Lu L, Li Y, Chen PJ, Duan C. Hypoxia-Inducible Factor 3 Is an Oxygen-Dependent Transcription Activator and Regulates a Distinct Transcriptional Response to Hypoxia. Cell Reports [Internet]. 2014 Mar 27 [cited 2022 May 18];6(6):1110–21. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2014.02.011
25. Jeong CH, Lee HJ, Cha JH, Jeong HK, Kwang RK, Kim JH, et al. Hypoxia-inducible factor-1α inhibits self-renewal of mouse embryonic stem cells in vitro via negative regulation of the leukemia inhibitory factor-STAT3 pathway. Journal of Biological Chemistry. 2007 May 4;282(18):13672–9.
26. Påhlman S, Mohlin S. Hypoxia and hypoxia-inducible factors in neuroblastoma. Cell and Tissue Research [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 May 18];372(2):269–75. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s00441-017-2701-1

27. Sato M, Hirose K, Kashiwakura I, Aoki M, Kawaguchi H, Hatayama Y, et al. LW6, a hypoxia-inducible factor 1 inhibitor, selectively induces apoptosis in hypoxic cells through depolarization of mitochondria in A549 human lung cancer cells. Mol Med Rep [Internet]. 2015 Sep 1 [cited 2022 May 18];12(3):3462–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26017562/
28. PDQ Screening and Prevention Editorial Board. Neuroblastoma Screening (PDQ®): Health Professional Version. PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. 2002 [cited 2022 May 18]; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26389460
29. Smith V, Foster J. High-Risk Neuroblastoma Treatment Review. Children (Basel) [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2022 May 18];5(9). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30154341/
30. Yang C, Tan J, Zhu J, Wang S, Wei G, Yang C, et al. YAP promotes tumorigenesis and cisplatin resistance in neuroblastoma. Oncotarget [Internet]. 2017 Mar 15 [cited 2022 May 18];8(23):37154–63. Available from: https://www.oncotarget.com/article/16209/text/
31. Frezza M, Hindo S, Chen D, Davenport A, Schmitt S, Tomco D, et al. Novel metals and metal complexes as platforms for cancer therapy. Curr Pharm Des [Internet]. 2010 May 1 [cited 2022 May 18];16(16):1813–25. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20337575/
32. (No Title). 2018; Available from: www.advancedotology.org
33. Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death: from specific DNA lesions to the DNA damage response and apoptosis. Cancer Lett [Internet]. 2013 May 28 [cited 2022 May 18];332(2):237–48. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22261329/
34. Zhu H, Luo H, Zhang W, Shen Z, Hu X, Zhu X. Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer. Drug Des Devel Ther [Internet]. 2016 Jun 7 [cited 2022 May 18];10:1885–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27354763/
35. Köberle B, Tomicic MT, Usanova S, Kaina B. Cisplatin resistance: preclinical findings and clinical implications. Biochim Biophys Acta [Internet]. 2010 Dec [cited 2022 May 18];1806(2):172–82. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20647037/

36. Tang YA, Chen Y feng, Bao Y, Mahara S, Yatim SMJM, Oguz G, et al. Hypoxic tumor microenvironment activates GLI2 via HIF-1α and TGF-β2 to promote chemoresistance in colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2018 Jun 26 [cited 2022 May 18];115(26):E5990–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29891662/
37. Welsh SJ, Powis G. Hypoxia inducible factor as a cancer drug target. Curr Cancer Drug Targets [Internet]. 2003 Dec [cited 2022 May 18];3(6):391–405. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14683498
38. Hussein D, Estlin EJ, Dive C, Makin GWJ. Chronic hypoxia promotes hypoxia-inducible factor-1α–dependent resistance to etoposide and vincristine in neuroblastoma cells. Molecular Cancer Therapeutics [Internet]. 2006 Sep 1 [cited 2022 May 18];5(9):2241–50. Available from: https://aacrjournals.org/mct/article/5/9/2241/235104/Chronic-hypoxia-promotes-hypoxia-inducible-factor
39. Brown LM, Cowen RL, Debray C, Eustace A, Erler JT, Sheppard FCD, et al. Reversing hypoxic cell chemoresistance in vitro using genetic and small molecule approaches targeting hypoxia inducible factor-1. Mol Pharmacol [Internet]. 2006 [cited 2022 May 18];69(2):411–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16254058/
40. Mao X, Nanzhang, Xiao J, Wu H, Ding K. Hypoxia-Induced Autophagy Enhances Cisplatin Resistance in Human Bladder Cancer Cells by Targeting Hypoxia-Inducible Factor-1α. Journal of Immunology Research [Internet]. 2021 [cited 2022 May 18];2021. Available from: /pmc/articles/PMC7904373/
41. Giaccari A, Giorda CB, Riccardi G, de Micheli A, Bruno G, Monge L, et al. Comment on: Inzucchi et al. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a patient-centered approach. Position statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetes Care 2012;35:1364-1379. Diabetes Care [Internet]. 2012 Oct [cited 2022 May 18];35(10). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22996185/
42. Franciosi M, Lucisano G, Lapice E, Strippoli GFM, Pellegrini F, Nicolucci A. Metformin Therapy and Risk of Cancer in Patients with Type 2 Diabetes: Systematic Review. PLOS ONE [Internet]. 2013 Aug 7 [cited 2022 May 18];8(8):e71583.

Available from: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0071583

43. Rêgo DF, Pavan LMC, Elias ST, de Luca Canto G, Guerra ENS. Effects of metformin on head and neck cancer: a systematic review. Oral Oncol [Internet]. 2015 [cited 2022 May 18];51(5):416–22. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25636350/
44. Heiden MGV, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science [Internet]. 2009 May 22 [cited 2022 May 18];324(5930):1029–33. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19460998/
45. Würth R, Barbieri F, Florio T. New molecules and old drugs as emerging approaches to selectively target human glioblastoma cancer stem cells. Biomed Res Int [Internet]. 2014 [cited 2022 May 18];2014. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24527434/
46. Semenza GL. HIF-1 mediates the Warburg effect in clear cell renal carcinoma. J Bioenerg Biomembr [Internet]. 2007 Jun [cited 2022 May 18];39(3):231–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17551816/
47. Jang M, Kim SS, Lee J. Cancer cell metabolism: implications for therapeutic targets. Exp Mol Med [Internet]. 2013 [cited 2022 May 18];45(10). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24091747/
48. Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. Cell [Internet]. 2008 Sep 5 [cited 2022 May 18];134(5):703–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18775299/
49. Feron O. Pyruvate into lactate and back: from the Warburg effect to symbiotic energy fuel exchange in cancer cells. Radiother Oncol [Internet]. 2009 Sep [cited 2022 May 18];92(3):329–33. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19604589/
50. Guimarães TA, Farias LC, Santos ES, Fraga CA de C, Orsini LA, Teles L de F, et al. Metformin increases PDH and suppresses HIF-1α under hypoxic conditions and induces cell death in oral squamous cell carcinoma. Oncotarget [Internet]. 2016 Jul 26 [cited 2022 May 18];7(34):55057–68. Available from: https://www.oncotarget.com/article/10842/text/

51. Cantrell LA, Zhou C, Mendivil A, Malloy KM, Gehrig PA, Bae-Jump VL. Metformin is a potent inhibitor of endometrial cancer cell proliferation--implications for a novel treatment strategy. Gynecol Oncol [Internet]. 2010 Jan [cited 2022 May 18];116(1):92–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19822355/
52. Harada K, Ferdous T, Harada T, Ueyama Y. Metformin in combination with 5-fluorouracil suppresses tumor growth by inhibiting the Warburg effect in human oral squamous cell carcinoma. International Journal of Oncology [Internet]. 2016 Jul 1 [cited 2022 May 18];49(1):276–84. Available from: http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2016.3523/abstract
53. Meric-Bernstam F, Gonzalez-Angulo AM. Targeting the mTOR signaling network for cancer therapy. J Clin Oncol [Internet]. 2009 May 1 [cited 2022 May 18];27(13):2278–87. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19332717/
54. Li X, Li J, Wang L, Li A, Qiu Z, Qi LW, et al. The role of metformin and resveratrol in the prevention of hypoxia□inducible factor 1α accumulation and fibrosis in hypoxic adipose tissue. British Journal of Pharmacology [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2022 May 18];173(12):2001. Available from: /pmc/articles/PMC4882491/
55. Zhou X, Chen J, Yi G, Deng M, Liu H, Liang M, et al. Metformin suppresses hypoxia-induced stabilization of HIF-1α through reprogramming of oxygen metabolism in hepatocellular carcinoma. Oncotarget [Internet]. 2015 Nov 28 [cited 2022 May 18];7(1):873–84. Available from: https://www.oncotarget.com/article/6418/text/
56. Finklestein JZ, Gilchrist GS. Recent advances in neuroblastoma. N Engl J Med [Internet]. 2010 Mar [cited 2022 May 18];362(23):116–27. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20558371/
57. Pinto NR, Applebaum MA, Volchenboum SL, Matthay KK, London WB, Ambros PF, et al. Advances in Risk Classification and Treatment Strategies for Neuroblastoma. J Clin Oncol [Internet]. 2015 Sep 20 [cited 2022 May 18];33(27):3008–17. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26304901/
58. Greijer AE, van der Wall E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. J Clin Pathol [Internet]. 2004 Oct [cited 2022 May 18];57(10):1009–14. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15452150/

59. Fontaine E. Metformin-Induced Mitochondrial Complex I Inhibition: Facts, Uncertainties, and Consequences. Front Endocrinol (Lausanne) [Internet]. 2018 Dec 17 [cited 2022 May 18];9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30619086/
60. Costa D, Gigoni A, Würth R, Cancedda R, Florio T, Pagano A. Metformin inhibition of neuroblastoma cell proliferation is differently modulated by cell differentiation induced by retinoic acid or overexpression of NDM29 non-coding RNA. Cancer Cell Int [Internet]. 2014 Jul 2 [cited 2022 May 18];14(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25120382/
61. Mouhieddine TH, Nokkari A, Itani MM, Chamaa F, Bahmad H, Monzer A, et al. Metformin and Ara-a Effectively Suppress Brain Cancer by Targeting Cancer Stem/Progenitor Cells. Frontiers in Neuroscience [Internet]. 2015 [cited 2022 May 18];9(NOV):442. Available from: /pmc/articles/PMC4655242/
62. Wu X, Yeerna H, Goto Y, Ando T, Wu VH, Zhang X, et al. Metformin inhibits progression of head and neck squamous cell carcinoma by acting directly on carcinoma-initiating cells. Cancer Research. 2019 Sep 1;79(17):4360–70.
63. Chen S, Zhang M, Xing L, Wang Y, Xiao Y, Wu Y. HIF-1α Contributes to Proliferation and Invasiveness of Neuroblastoma Cells via SHH Signaling. PLOS ONE [Internet]. 2015 Mar 26 [cited 2022 May 18];10(3):e0121115. Available from: https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0121115
64. Orecchioni S, Reggiani F, Talarico G, Mancuso P, Calleri A, Gregato G, et al. The biguanides metformin and phenformin inhibit angiogenesis, local and metastatic growth of breast cancer by targeting both neoplastic and microenvironment cells. Int J Cancer [Internet]. 2015 Mar 15 [cited 2022 May 18];136(6):E534–44. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25196138/
65. Wang J, Li G, Wang Y, Tang S, Sun X, Feng X, et al. Suppression of tumor angiogenesis by metformin treatment via a mechanism linked to targeting of HER2/HIF-1α/VEGF secretion axis. Oncotarget [Internet]. 2015 [cited 2022 May 18];6(42):44579. Available from: /pmc/articles/PMC4792577/
66. Ye J, Chen K, Qi L, Li R, Tang H, Zhou C, et al. Metformin suppresses hypoxia-induced migration via the HIF-1α/VEGF pathway in gallbladder cancer in

vitro and in vivo. Oncol Rep [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2022 May 18];40(6):3501–10. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30272364/

67. Wheaton WW, Weinberg SE, Hamanaka RB, Soberanes S, Sullivan LB, Anso E, et al. Metformin inhibits mitochondrial complex I of cancer cells to reduce tumorigenesis. Elife [Internet]. 2014 May 13 [cited 2022 May 18];3(3). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24843020/

68. Kaelin WG. The von Hippel-Lindau tumour suppressor protein: O2 sensing and cancer. Nat Rev Cancer [Internet]. 2008 Nov [cited 2022 May 18];8(11):865–73. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18923434/

69. Chaube B, Malvi P, Singh SV, Mohammad N, Meena AS, Bhat MK, et al. Targeting metabolic flexibility by simultaneously inhibiting respiratory complex I and lactate generation retards melanoma progression. Oncotarget [Internet]. 2015 Oct 15 [cited 2022 May 18];6(35):37281–99. Available from: https://www.oncotarget.com/article/6134/text/

70. Salani B, Marini C, del Rio A, Ravera S, Massollo M, Orengo AM, et al. Metformin impairs glucose consumption and survival in Calu-1 cells by direct inhibition of hexokinase-II. Sci Rep [Internet]. 2013 Jun 25 [cited 2022 May 18];3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23797762/

71. Ojha R, Singh SK, Bhattacharyya S. JAK-mediated autophagy regulates stemness and cell survival in cisplatin resistant bladder cancer cells. Biochim Biophys Acta [Internet]. 2016 Nov 1 [cited 2022 May 18];1860(11 Pt A):2484–97. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27474203/

72. Gottesman MM. Mechanisms of cancer drug resistance. Annu Rev Med [Internet]. 2002 [cited 2022 May 18];53:615–27. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11818492/

73. Tang YA, Chen Y feng, Bao Y, Mahara S, Yatim SMJM, Oguz G, et al. Hypoxic tumor microenvironment activates GLI2 via HIF-1α and TGF-β2 to promote chemoresistance in colorectal cancer. Proc Natl Acad Sci U S A [Internet]. 2018 Jun 26 [cited 2022 May 18];115(26):E5990–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29891662/

74. Chen J, Wang X, Yuan Y, Chen H, Zhang L, Xiao H, et al. Exploiting the acquired vulnerability of cisplatin-resistant tumors with a hypoxia-amplifying DNA repair-

inhibiting (HYDRI) nanomedicine. Sci Adv [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2022 May 18];7(13). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33771859/

75. Guimarães TA, Farias LC, Santos ES, Fraga CA de C, Orsini LA, Teles L de F, et al. Metformin increases PDH and suppresses HIF-1α under hypoxic conditions and induces cell death in oral squamous cell carcinoma. Oncotarget [Internet]. 2016 [cited 2022 May 18];7(34):55057. Available from: /pmc/articles/PMC5342401/

76. Zhou X, Chen J, Yi G, Deng M, Liu H, Liang M, et al. Metformin suppresses hypoxia-induced stabilization of HIF-1α through reprogramming of oxygen metabolism in hepatocellular carcinoma. Oncotarget [Internet]. 2016 [cited 2022 May 18];7(1):873. Available from: /pmc/articles/PMC4808039/

77. Ye J, Chen K, Qi L, Li R, Tang H, Zhou C, et al. Metformin suppresses hypoxia-induced migration via the HIF-1α/VEGF pathway in gallbladder cancer in vitro and in vivo. Oncology Reports [Internet]. 2018 Dec 1 [cited 2022 May 18];40(6):3501–10. Available from: http://www.spandidos-publications.com/10.3892/or.2018.6751/abstract

8. EKLER

Ek 1. Etik Kurul İzni

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Sayın Prof.Dr.Hatice Nur OLGUN

Araştırmanıza ilişkin Kurulumuz kararı aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederiz.

ETİK KOMİSYONUN ADI	**DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU**
AÇIK ADRES	**Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2. Kat İnciraltı-İZMİR**
TELEFON	**0 232 412 22 54-0 232 412 22 58**
FAKS	**0 232 412 22 43**
E-POSTA	**etikkurul@deu.edu.tr**

BAŞVURU BİLGİLERİ	DOSYA NO:	5049-GOA	
	ARAŞTIRMA	UZMANLIK TEZİ ☐ MÜNFERİT ARAŞTIRMA ☐ ÖÇM ☐ YÜKSEKLİSANS ☐ DOKTORA ☒	
	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	**In vitro Nöroblastom Modelinde Hipoksinin Tümör Davranışı Üzerine Etkisi**	
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI ve UZMANLIK ALANI	Prof.Dr.Hatice Nur OLGUN Onkoloji Enstitüsü	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒

	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA İLE İLGİLİ LİTERATÜR	Mevcut		Türkçe ☐ İngilizce ☒ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	Mevcut		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐

KARAR BİLGİLERİ	**Karar No:2019/25-22**	**Tarih:14.10.2019**
	Prof.Dr.Hatice Nur OLGUN'un sorumlusu olduğu **"In vitro Nöroblastom Modelinde Hipoksinin Tümör Davranışı Üzerine Etkisi"** isimli klinik araştırmaya ait başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ

ÇALIŞMA ESASI	Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu İşleyiş Yönergesi İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu

ETİK KURUL ÜYELERİ

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkili mi?		İmza
Prof.Dr.Sadık Kıvanç METİN (Başkan)	Kalp ve Damar Cerrahisi	DEU Tıp Fakültesi Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr. Sermin ÖZKAL (Başkan Yardımcısı)	Tıbbi Patoloji	DEÜ Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji A.D	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Serkan YENER	Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Pınar TUNCEL	Tıbbi Biyokimya	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Prof.Dr.Arzu GENÇ	Nörolojik Fizyoterapi - Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon	DEU Fizik Tedavi ve Rehabilitasyon Yüksek Okulu	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Nil Hocaoğlu AKSAY	Tıbbi Farmakoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Murat BEKTAŞ	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	DEU Hemşirelik Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hemşireliği	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Tufan ÇANKAYA	Tıbbi Genetik	Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Ayfer DAYI	Davranış Fizyolojisi	DEU Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı	Kadın	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Korcan DEMİR	Pediatrik Endokrinoloji	DEU Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Doç.Dr.Mahmut Cem ERGON	Tıbbi Mikrobiyoloji	DEU Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı	Erkek	E ☐	H ☒	
Öğr.Gör.Dr.Kıvanç YÜKSEL	Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Bilişim A.D	Erkek	E ☐	H ☒	
Av.Esra FIRTINA	Avukat	DEU Rektörlüğü Hukuk Müşavirliği	Kadın	E ☐	H ☒	
Mehmet Erhan ÖZKUL	Sağlık mensubu olmayan üye	D.E.U Tıp Fakültesi İdari Mali İşler	Erkek	E ☐	H ☒	

Dokuz Eylül Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu

9.KATKI

T.C.DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi

PROJE ÖZET RAPORU

Proje Yürütücüsü	Prof.Dr. HATİCE NUR OLGUN		
Proje Kodu	2017.KB.SAG.016		
Proje Başlığı	Nöroblastom 3D Modelllerinde normoksik/hipoksik mikroçevrenin hipoksia-1 alpha üzerinden regüle edilen hücre mekanizmalarına olan etkisi; Metabolamik yaklaşım		
Proje Türü	Genel Araştırma Projesi		
Proje Grubu	Tıp Sağlık		
Süresi (Ay)	18		
Proje Durumu	Kapanmış		
Başvuru Tarihi	14.12.2016	Muhtemel Bitiş Tarihi	10.11.2018
Başlangıç Tarihi	10.5.2017	Bitiş Tarihi	10.11.2018
Ek Süre 1 (Ay)		Ek Süre 2 (Ay)	
Onaylanan Bütçesi	₺166.550,00		
Ek Ödenek 1	₺38.400,00		
Ek Ödenek 2	₺0,00		
Ek Ödenek 3	₺0,00		
Toplam Bütçe	₺204.950,00	Gerçekleşen Harcama	₺204.652,62

Araştırma Alanları

Rapor Takvimi (Projenin onaylanan rapor planı)

Sıra	Başlık	Beklenen Tarih	Ekleme Tarihi	Onay Tarihi

Proje Bütçesi

Bütçe Türü	Tanımı / Adı	Miktar	K.Miktar	Birimi	Birim Fiyatı	KDV	Tutar (KDV'li)	Durumu
Tüketim Malzemesi (Genel)	Eski Sistemden Yapılan Harcamalar	1	0	Adet	₺204.652,62	0	₺204.652,62	Onaylanan
Tüketim Malzemesi (Genel)	Eski Projelerde Harcanmamış Bütçe	1	1	Adet	₺297,38	0	₺297,38	Onaylanan

Bütçe Özeti

Bütçe Türü	Tutar	Yüzde (%)
Tüketim Malzemesi (Genel)	₺204.950,00	100

10. ÖZGEÇMİŞ

SERDAR BAYRAK

Kişisel Bilgiler

İletişim Bilgileri

İletişim Adresi

Telefon

E-posta

İnternet Sayfası

Öğrenim Bilgileri

04 Eylül 2015 - Şu Anda (6 yıl 9 ay)
Doktora, Doktora, DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ, TÜRKİYE
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ, TEMEL ONKOLOJİ (DR)
Diploma Numarası: -
Ağırlıklı Genel Not Ortalaması: 3.89 / 4.0

15 Haziran 2001 - 15 Haziran 2005 (4 yıl 1 ay)
DİĞER (SAĞLIK BAKANLIĞI İZMİR ATATÜRK EĞİTİM ARAŞTIRMA HASTANESİ), TÜRKİYE
DİĞER, DİĞER
Eğitim Alt Alanı: KALP DAMAR CERRAHİSİ

01 Haziran 1995 - 01 Haziran 1999 (4 yıl 1 ay)
DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi), TÜRKİYE
DİĞER, DİĞER
Eğitim Alt Alanı: TIP BİLİMLERİ

Deneyim / İşyeri Bilgileri

01 Ocak 2021 - Şu Anda (1 yıl 5 ay) (Tam Zamanlı)
PROF. DR., PROF. DR., DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ ONKOLOJİ ENSTİTÜSÜ

01 Temmuz 2017 - Şu Anda (4 yıl 11 ay) (Tam Zamanlı)
PROF. DR., PROF. DR., DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
İdari Görev: BAŞHEKIM YARDIMCISI

01 Ocak 2016 - Şu Anda (6 yıl 5 ay) (Tam Zamanlı)
DOÇ. DR., DOÇ. DR., DİĞER (Dokuz Eylül Üniversitesi)

Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanları

Bilimsel Teknolojik Faaliyet Alanı Bilgileri

Sağlık Bilimleri -- Tıp -- Dahili Tıp Bilimleri -- İç Hastalıkları -- Onkoloji

Sağlık Bilimleri -- Tıp -- Cerrahi Tıp Bilimleri -- Kalp ve Damar Cerrahisi -- Çocuk Kalp ve Damar Cerrahisi

Tarımsal Bilimler -- Ziraat -- Bahçe Bitkileri -- Biyoteknoloji ve Genetik

Teknik Bilimler -- Kimya Mühendisliği ve Teknolojisi -- Biyoteknoloji -- Kök Hücre Mühendisliği

Anahtar Kelimeler

Açık Kalp Cerrahisi

Damar Cerrahisi

Kalp ve Damar Cerrahisi

Doku Gelişimi

Doku Görüntü Analizi

Doku Rejenerasyonu

Ar-Ge Yetkinlik

Kitaplar

Ö. KOZAN, M. ZOGHİ, S. BAYRAK, A. A. AĞIR & A. GÜRBÜZ, KRONİK KALP YETERSİZLİĞİNİN CERRAHİ TEDAVİSİNDE DÜNDEN BUGÜNE DEĞİŞENLER, A DAN Z YE KRONİK KALP YETERSİZLİĞİ(339 - 342), ISBN: 978-975-277-308-0: GÜNEŞ TIP KİTAPEVLERİ, Kitapta Bölüm.

S. BAYRAK, A. K. BOZKURT, U. DEMİRKILIÇ, A. GÜRBÜZ, L. YAZICIOĞLU, Ş. A. KÜÇÜKER, S. DOĞANCI & E. ERŞEN, PERİFERİK ARTER VE VEN HASTALIKLARI TEDAVİ KILAVUZU 2008, ISBN: 978-975-277-224-3: GÜNEŞ TIP KİTABEVLERİ, Kitap.

S. BAYRAK & T. GENÇPINAR, Hemodializ hastalarında tekrarlayan damar erişim trombozunun sebebi olarak trombofili, damar, ISBN: 9786056920516: bayçınar, Kitapta Bölüm.

Makaleler

S. BAYRAK, S. AKTAŞ, Z. S. ALTUN, Y. ÇAKIR, M. TÜTÜNCÜ, S. ÖZŞENER, O. YILMAZ & H. N. OLGUN, Antioxidant effect ofacetyl-L-carnitineagainst cisplatin-inducedcardiotoxicity, JOURNAL OF INTERNATIONAL MEDICAL RESEARCH, 2020, 0300-0605, 48, 8, 1-11.

T. GENÇPINAR, S. BAYRAK, Ç. BİLEN, B. KEMAHLİ, P. AKOKAY, M. BARIŞ & A. C. ERDAL, Effect of bivalirudin on neointimal hyperplasia and endothelial proliferation in rabbit, General Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2020, 1863-6705.

S. BAYRAK, T. GENÇPINAR, G. AKKAYA, Ç. BİLEN, P. AKOKAY, N. AYDERELİ, O. YILMAZ & S. K. METİN, Efficiency of Minimized Circuits of a Heart Roller Pump on Systemic Inflammatory Response Syndrome and Multiorgan Effects in a Rat Model, The Heart Surgery Forum, 2020, 1522-6662, 23, 2, 187-192.

N. HOTAR, R. E. OMAY, S. BAYRAK, Z. KURUÜZÜM & B. ÜNAL, Pandeminin Toplumsal Yansımaları, İzmir İktisat Dergisi, 2020, 1308-8173, 35, 2, 211-220.

S. BAYRAK, S. AKTAŞ, Z. S. ALTUN, Y. ÇAKIR, M. TÜTÜNCÜ, S. K. ÖZŞENGEZER, O. YILMAZ & H. N. OLGUN, title Antioxidant effect of acetyl- scpl/scp -carnitine against cisplatin-induced cardiotoxicity/title, JOURNAL OF INTERNATIONAL MEDICAL RESEARCH, 2020, 0300-0605, 48, 8, 30006052095139.

S. BAYRAK, Z. S. ALTUN, D. İNCE, S. AKTAŞ & H. N. OLGUN, Betulinic acid and Cisplatin inhibit metastasis related genes in neuroblastoma cells due to their N-MYC status., UHOD-ULUSLARARASI HEMATOLOJI-ONKOLOJI DERGISI, 2019, 1306-133X, 29, 2, 70-78.

G. ÇALIBAŞI KOÇAL, A. PAKDEMİRLİ, S. BAYRAK, N. M. ÖZÜPEK, T. SEVER, Y. BAŞBINAR, H. ELLİDOKUZ & T. YİĞİTBAŞI, Curcumin effects on cell proliferation, angiogenesis and metastasis in colorectal cancer., JBUON, 2019, 1107-0625, 24, 4, 1482-1487.

T. GENÇPINAR, Ç. BİLEN, S. BAYRAK, G. AKKAYA, V. HANCI & S. BÜYÜKÇOBAN, Extra-corporeal Membrane Oxygenation Procedures on YouTube: What Practices Have Being Show, e-Journal of Cardiovascular Medicine, 2019, 2147-1924, 7, 1, 28-35.

T. GENÇPINAR, Ç. BİLEN, S. BAYRAK, G. AKKAYA, V. HANCI & S. BÜYÜKÇOBAN, Extra-corporeal Membrane OxygenationProcedures on YouTube: What PracticesHave Being Show, E Journal of Cardiovascular Medicine, 2019, 2147-1924, 7, 1, 28-35.

H. TOSUN, S. AKTAŞ, A. G. DİNİZ ÜNLÜ, T. AKTAŞ, B. BARAN, S. BAYRAK, Z. S. ALTUN, Y. ÇAKIR & H. N. OLGUN, Scanning all chromosomal abnormalities with microarray-based comparative genomic hybridization in differential diagnosis of pediatric cancers, INTERNATIONAL JOURNAL OF CLINICAL AND EXPERIMENTAL PATHOLOGY, 2019, 1936-2625.

T. GENÇPINAR, Ç. BİLEN, G. AKKAYA, S. BAYRAK & H. H. ÇATALYÜREK, VASKULER RİNG ANOMALİLERİNE CERRAHİ GİRİŞİM YÖNTEMLERİ VE YAKLAŞIMLAR, Medical Journal of İzmir Hospital, 2019, 1305-5151, 23, 2, 109-114.

T. GENÇPINAR, Ç. BİLEN, G. AKKAYA, S. BAYRAK & H. H. ÇATALYÜREK, VASKULER RİNG ANOMALİLERİNE CERRAHİ GİRİŞİM YÖNTEMLERİ VE YAKLAŞIMLAR, İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 2019, 1305-5151, 23, 2, 109-114.

T. GENÇPINAR, Ç. BİLEN, G. AKKAYA, S. BAYRAK & H. H. ÇATALYÜREK, İZOLE KARDİAK KİST HİDATİK HASTALIĞINA CERRAHİ YAKLAŞIM VE YÖNTEMLER, İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 2019, 1305-5151, 23, 1, 15-20.

T. GENÇPINAR, Ç. BİLEN, G. AKKAYA, S. BAYRAK & H. H. ÇATALYÜREK, İZOLE KARDİAK KİST HİDATİK HASTALIĞINA CERRAHİ YAKLAŞIM VE YÖNTEMLER , Medical Journal of İzmir Hospital, 2019, 2148-6190, 23, 1, 15-20.

G. İLHAN, Ş. BOZOK, B. OZPAK, H. KARA, S. YAZMAN, S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER & A. GÜRBÜZ, Anatomical and functional changes after aortic valve replacement with different sizes of mechanical valves, CARDIOVASCULAR JOURNAL OF AFRICA, 2018, 1995-1892, 29, 6, 338-343.

S. BAYRAK & T. GENÇPINAR, Guidelineler Eşliğinde Skleroterapi, Turkiye Klinikleri J Cardiovasc Surg, 2017, 1308-0997, 9, 2, 118-122.

S. BAYRAK, Could the novel double hole technique be an alternative for the inflow occlusion method, A CARDIOVASCULAR JOURNAL OF AFRICA, 2016, 0000-0000, 4, 1-3.

S. BAYRAK, Venöz Trombozlu Hastanın Malignite Yönünden Değerlendirilmesi Evaluation of Venous Thrombosis in Patients with Malignancy Respect, Turkiye Klinikleri Journal of Cardiovascular Surgery Special Topics, 2016, 0000-0000, 7, 3, 38-44.

S. BAYRAK, SURGİCAL METHOD FOR FACİLİTATİON OF AORTİC VALVE REPLACEMENT INTRAOPERATİVE APPLİCATİON OF EXTERNAL PRESSURE FOR INCREASİNG THE TRANSVERSE AXİS OF AORTİC ANNULUS, World Journal of Cardiovascular Surgery, 2015, 0000-0000, 5, 108-113.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ADÖLESAN YAŞ GRUBUNDAKİ OLGULARDA SKLEROTERAPİ DENEYİMİMİZ, İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 2014, 0000-0000, 18, 1, 1-6.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, ENDOKAVİTER PACEMAKER LEAD i ÜZERİNDE YERLEŞİMLİ DEV VEJETASYONUN AÇIK İNTRAKARDİYAK TEKNİKLE ÇIKARILMASININ ATAN KALPTE KORONER BYPASS CERRAHİSİ İLE EŞ ZAMANLI UYGULANIMI, İZMİR ATATÜRK EĞİTİM HASTANESİ TIP DERGİSİ, 2014, 0000-

0000, 18, 1, 57-60.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Early and Mid term Outcomes in Female Patients Undergoing Isolated Conventional Coronary Surgery, Journal of Cardiovascular and Thorasıc Research, 2014, 0000-0000, 6, 2, 105-110.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, PULMONER ARTERE UZANIM GÖSTEREN SAĞ VENTRİKÜL YERLEŞİMLİ VE OLAĞANDIŞI DEV FİBRİLER YAPILI MİKSOMA OLGUSU, İZMİR ATATÜRK EĞİTİM HASTANESİ TIP DERGİSİ, 2014, 0000-0000, 18, 61-66.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ATRİYAL SEPTAL DEFEKT KAPATMA CİHAZININ SOL ATRİYUMA MİGRASYONU SONRASI MİTRAL KAPAK ÜZERİNE DEPLASE OLDUĞU OLGUDA ACİL CERRAHİ YAKLAŞIMIMIZ, İZMİR ATATÜRK EĞİTİM HASTANESİ TIP DERGİSİ, 2013, 0000-0000, 17, 237-240.

G. İLHAN, O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Diagnosisand management of carotid body tumor a report of seven cases, Turkish Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2013, 0000-0000, 21, 1, 194-200.

O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Effect of 1 25 dihydroxyvitamin D3 on intimal hyperplasia developing in vascular anastomoses a rabbit model, Arch Med Sci, 2013, 0000-0000, 9, 4, 1-5.

B. ÖZCEM, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, KORONER ARTER CERRAHİSİ ÖNCESİNDE ASETİLSALİSİK ASİT KULLANAN HASTALARLA KULLANMAYANLARIN POSTOPERATİF DÖNEMDE MEDİYASTİNAL DRENAJ VE FARKLI DEĞİŞKENLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI, İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi,, 2013, 0000-0000, 17, 4, 188-197.

A. ŞAHİN, L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, MİTRAL KAPAK HASTALIĞINA BAĞLI KRONİK ATRİYAL FİBRİLASYONLU HASTALARDA RADYOFREKANS ABLASYON İLE YAPILAN MODİFİYE MAZE PROSEDÜRÜNDE PREOPERATİF AMİODARON KULLANIMININ ETKİLERİ ERKEN VE ORTA DÖNEM SONUÇLAR, İzmir Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi,, 2013, 0000-0000, 17, 2, 103-111.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, SÜPERFİCİAL FEMORAL ARTERDE POSTTRAVMATİK GELİŞEN PSÖDOANEVRİZMANIN AYNI SEANSTA HİBRİT YÖNTEMLER İLE TEDAVİSİ OLGU SUNUMU, İZMİR ATATÜRK EĞİTİM HASTANESİ TIP DERGİSİ, 2013, 0000-0000, 17, 98-102.

O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Akut Masif Pulmoner Emboli Tedavisinde Ultrasonografik Kateter ile Direkt Trombolitik Tedavi Türkiye deki İlk Uygulamalar, Damar Cerrahi Dergisi, 2012, 0000-0000, 21, 1, 47-50.

S. BAYRAK, O. GÖKALP, B. ÖZCEM & A. GÜRBÜZ, Assessment of protective effects of methylprednisolone and pheniramine maleate on reperfusion injury in kidney after distant organ ischemia a rat model, Ann Vasc Surg, 2012, 0000-0000, 26, 559-565.

İ. ÖZSÖYLER, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Brucella Endocarditis and its rare complications, Türk Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi, 2012, 0000-0000, 20, 1, 44-49.

O. GÖKALP, S. BAYRAK, A. ŞAHİN & A. GÜRBÜZ, Cross over femoropopliteal bypass single graft or double grafts, Annals of Vascular Surgery, 2012, 0000-0000, 26, 707-714.

S. BAYRAK, B. ÖZCEM, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, Hibrid kardiyovasküler cerrahi ameliyathanelerinde skopi altında port kateter implantasyonu, Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi, 2012, 0000-0000, 20, 2, 275-280.

O. GÖKALP, S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER & A. GÜRBÜZ, Hybrid Repair Of Aortic Arch Aneurysms in Same Session, Thorac Cardiovasc surg, 2012, 0000-0000, 60, 501-507.

S. BAYRAK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, Kronik Venöz yetersizlik olgularında eksternal banding uygulamalarımız, Türk Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi, 2012, 0000-0000, 20, 4, 788-793.

S. BAYRAK, A. ŞAHİN & A. GÜRBÜZ, The effect of atrium diameter on the successfull treatment of atrial fibrillation through the radiofrequency ablation technique, Türk Göğüs kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi, 2012, 0000-0000, 20, 3, 503-509.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Abdominal Aort Anevrizmalarında Hibrid Girişimler, Türk Klinikleri Kalp Damar Cerrahisi, 2011, 0000-0000, 3, 1, 52-60.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, AİLESEL TİP 1 PROTEİN C SEVİYESİ DÜŞÜKLÜĞÜ İLE KOMBİNE METİLENTETRAHİDROFOLAT REDÜKTAZ GEN MUTASYONU TANILANMIŞ OLGUDA GELİŞEN REKÜRREN DERİN VEN TROMBOZU VE PULMONER VENÖZ TROMBOEMBOLİZİMLİ OLGUNUN MESLEKİ VE SOSYAL YAŞAMINDA OLUŞTURDUĞU LİMİTASYONLAR, İZMİR ATATÜRK EĞİTİM HASTANESİ TIP DERGİSİ, 2011, 0000-0000, 49, 2, 84-86.

O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Comparison of inflow occlusion on the beating heart with cardiopulmonary bypass in the extraction of a mass lesion or a foreign body from the right heart, Eur J Cardiothorac Surg., 2010, 0000-0000.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, FALLOT TETRALOJİSİNE YÖNELİK GERÇEKLEŞTİRİLEN TAM DÜZELTME OPERASYONUNDA KULLANILAN OTOLOG PERİKARD YAMASINDA GEÇ DÖNEMDE BULGULANAN DEV ANEVRİZMATİK DİLATASYON, İZMİR ATATÜRK EĞİTİM HASTANESİ TIP DERGİSİ, 2010, 0000-0000, 48, 3, 122-123.

O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, FEMORAL ARTER KANÜLASYONU SIRASINDA FEMORAL ARTERİN DİSEKE OLMASI NEDENİYLE PTFE GREFT İLE İLİYAK KANÜLASYON VE İLİO FEMORAL BAYPAS UYGULAMAS, MN KARDİYOLOJİ DERGİSİ, 2010, 0000-0000, 18, 219-221.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, A Successful External Valvuloplasty By Banding Application, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2009, 0000-0000, 13, 2, 1-6.

S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER & A. GÜRBÜZ, Cardiac Injuries Due To Blunt Trauma, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2009, 0000-0000, 13, 1, 1-6.

İ. ÖZSÖYLER, S. BAYRAK, G. İLHAN & A. GÜRBÜZ, GERÇEK FEMORAL ARTER ANEVRİZMALARI, Damar Cerrahi Dergisi, 2009, 0000-0000, 15, 3, 37-40.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, Planning The Operation In Occlusive Lower Extremity Arterial Disease With MR Angiography, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2009, 0000-0000, 13, 1, 1-7.

Ö. TETİK, G. İLHAN, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Ruptured abdominal aortic aneurysms a five year experience, Anadolu Kardiyol Derg., 2009, 0000-0000, 9, 1, 71-73.

O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, SOL KALP KAPAK PATOLOJİLERİNE EŞLİK EDEN TRİKÜSPİT KAPAK YETMEZLİĞİNDE UYGULANAN SÜTÜR ANÜLOPLASTİ İLE KALANGOS BİODEGRADABLE RİNG ANÜLOPLASTİ TEKNİKLERİNİN ERKEN DÖNEM SONUÇLARI, MN KARDİYOLOJİ DERGİSİ, 2009, 0000-0000, 16, 1, 38-44.

S. BAYRAK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, Venöz Tromboemboli Epidemiyoloji Ve Kliniği, Fleboloji Dergisi, 2009, 0000-0000, 11, 3, 6-8.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Which is first left anterior descending artery anastomosis or right coronary artery anastomosis in off pump coronary artery bypass grafting, Heart Surg Forum. 2009 Oct;12(5):256-60, 2009, 0000-0000, 12, 5, 256-260.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Approach To Swan Ganz Thermodilution Catheter Complications 6 Years Experience With 2310 Cases, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2008, 0000-0000, 11, 2, 1-6.

A. GÜRBÜZ, S. BAYRAK & B. ÖZCEM, Diagnostic Evaluation Of Incomplete Double Aortic Arch Right Dominance VSD And PFO Comorbities With Cardiac MRI, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2008, 0000-0000, 12, 2, 1-4.

A. GÜRBÜZ, Ö. TETİK, S. BAYRAK & B. ÖZCEM, Our Late PTFE Graft Infection Cases, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2008, 0000-0000, 12, 2, 1-4.

S. BAYRAK, G. İLHAN & A. GÜRBÜZ, Perthes Syndrome In A Compressive Politrauma Case, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2008, 0000-0000, 12, 2, 1-4.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Subclavian artery revascularization with carotico subclavian bypass grafting, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2008, 0000-0000, 12, 1, 1-5.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, Surgical Approach To Giant Femoral Artery Pseudoaneurysm Due To Gunshot Injury, Anadolu Kardiyoloji Dergisi, 2008, 0000-0000, 8, E, 15-21.

S. DOĞANCI, O. O. BALKANAY, S. BAYRAK, A. K. BOZKURT & A. GÜRBÜZ, İyileşmesi Zor Venöz Bacak Ülserlerinin Teda visinde Ekstraselüler Matriks Proteini Erken Ulusal Sonuçlar, Damar Cerrahi Dergisi, 2008, 0000-0000, 17, 3, 128-133.

Ö. TETİK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, A Glomus Caroticum Case Accompanied By A Giant Thyroidal Nodule, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2007, 0000-0000, 10, 2, 1-10.

G. İLHAN, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Experience With Infrarenal Vena Cava Injuries, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2007, 0000-0000, 11, 1, 1-4.

İ. ÖZSÖYLER, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, St Jude ve CarboMedics Aortik Mekanik Kalp Kapak Protezlerinin Sol Ventrikül Fonksiyonlarına Etkileri Orta Dönem Sonuçları, Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi, 2007, 0000-0000, 15, 1, 7-11.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Surgical Approach To The Popliteal Arteries Large Pseudoaneurysms Developed After Penetrating Injuries, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2007, 0000-0000, 11, 1, 1-12.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, Surgical Approach to the Pseudoaneurysms Of Lower Extremity Arteries Developed After Gunshot Injuries, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2007, 0000-0000, 10, 2, 1-17.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Surgical Treatment Of İnfrarenal Abdominal Aortic Aneurysms Clinical trials And Experiences, The ınternet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2007, 0000-0000, 11, 2, 1-7.

Ö. TETİK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Surgical treatment of unilateral iliac artery occlusive disease using a retroperitoneal approach, Acta Chir Belg., 2007, 0000-0000, 107, 4, 1-4.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, Two Cases With Giant Tumor In A Rare Location At The Anterior Chest Wall, The internet Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgey, 2007, 0000-0000, 9, 1, 1-13.

S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER & A. GÜRBÜZ, Comparison Of beating Heart Coronary Artery Surgery And Conventional CABG With Regard To Cost Effectiveness, the internet Journal Of Thoracic And Cardivascular Surgery, 2006, 0000-0000, 10, 2, 1-7.

Ö. TETİK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Subklavyan Steal Sendromunun Cerrahi Tedavisinde Subklavyan Subklavyan Bypass, Türk Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Dergisi, 2006, 0000-0000, 14, 2, 138-140.

G. İLHAN, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Brakiyal Arterde Geç Dönemde Gelişen Post Travmatik Yalancı Anevrizma ve Cerrahi Tedavisi, Türk Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Dergisi, 2004, 0000 0000, 12, 1, 58 60.

G. İLHAN, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Atan Kalpte Gerçekleştirilen Koroner Revaskülerizasyonun Kroni Böbrek Yetmezlikli Olgularda Uygulanımı, İzmir Atatürk Eğitim Araştıra Hastanesi Tıp Dergisi, 2003, 0000-0000, 41, 2, 89-94.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ERKEN DÖNEMDE İNTRAAORTİK BALON POMPASI KULLANIMININ OLUMLU ETKİLERİ, MN KARDİYOLOJİ DERGİSİ, 2003, 0000-0000, 10, 2, 1-2.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Etiyolojisinde Tüberkülozun Rol Aldığı kronik Konstriktif Perikarditlerde Cerrahi Uygulamalarımız, İzmir Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 2003, 0000-0000, 41, 1, 27-32.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Karotis arter Yaralanmalarında Parsiyel J Sternotomi, İzmir Atatürk Eğitim Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi, 2003, 0000-0000, 46, 2, 81-84.

Ö. TETİK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, Periferik Arter Psödoanevrizmaları Ve Cerrahi Tedavisi, İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi, 2003, 0000-0000, 41, 4, 241-243.

Bildiriler

T. GENÇPINAR, S. BAYRAK, Ç. BİLEN, B. KEMAHLİ, P. AKOKAY, M. BARIŞ & A. C. ERDAL, Effect of bivalirudin on neointimal hyperplasia and endothelial proliferation in rabbit, Sözlü Sunum, TURK KALP VE DAMAR CERRAHİSİ KONGRESİ, 12 Kasım 2020, 15 Kasım 2020, 2149-8156, 28, 1, 1 - 11.

Ş. KARAKILIÇ, T. GENÇPINAR, S. K. METİN, Ş. B. UĞURLU & S. BAYRAK, GİRİŞİMSEL RADYOLOJİİŞLEMİNDE KATETER KOMPLİKASYONU VE CERRAHİ TEDAVİ, Poster Sunumu, 19.Ulusal Vasküler veEndovasküler Cerrahi Kongresi, 26 Ekim 2019, 29 Ekim 2019.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, A RARE ETIOLOGICAL FACTOR IN UPPER EXTREMITY DEEP VENOUS THROMBOSIS CARDIAC CATHETERIZATION, Basılı, 2 nd eurasian congress on emergency medicine 2010, 28 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

O. GÖKALP, A. ŞAHİN, Ö. TETİK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, AKUT MİYOKARD ENFARKTÜSÜ İLE BİRLİKTE GELİŞEN SOL İLİAC ARTER EMBOLİSİ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Uluslararası katılımlı kongresi, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

B. ÖZCEM, O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ARTERİOVENÖZ FİSTÜL PSÖDOANEVRİZMALARI CERRAHİ TECRÜBEMİZ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Uluslararası katılımlı kongresi, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, AYNI CERRAHİ ENDİKASYONLARDA ATAN KALPTE İNFLOW OKLÜZYON İLE KARDİYO PULMONER BAYPASIN HASTANEDE YATIŞ OPERASYON YOĞUN BAKIMDA KALIŞ OPERASYONDAN SONRA SOLUNUM RESPRATÖRÜNE BAĞLI KALMA SÜRELERİ AÇISINDAN KARŞILAŞTIRILMASI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Ulusal katılımlı, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, FEMORAL ARTER KANÜLASYONU SIRASINDA FEMORAL ERTERİN DİSEKE OLMASI NEDENİYLE PTFE GREFT İLİAK HANULASYON VE İLİOFEMORAL BYPASS, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Uluslararası katılımlı kongresi, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

Ö. TETİK, G. İLHAN, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, PREOPERATIVE CHARACTERISTICS OF OUR CASES ADMITTED TO EMERGENCY SERVICE WITH THE DIAGNOSIS OF RUPTURED ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM, Basılı, 2 nd eurasian congress on emergency medicine 2010, 28 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, RETİKÜLER VENLERDE LİKİD VE KÖPÜK SKLEROTERAPİ TEKNİKLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Uluslararası katılımlı kongresi, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

S. BAYRAK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, SKLEROTERAPİ SONRASI GELİŞEN HİPERPİGMENTASYON VE HİRUDİN, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Uluslararası katılımlı kongresi, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

A. ŞAHİN, O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, TEKRARLAYAN PERİKARDİYAK TAMPONAD DURUMLARINDA UYGULADIĞIMIZ SUBKSİFOİD PERİKARDİYAK PENCERE OLGULARIMIZ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Ulusal katılımlı kongresi, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

S. BAYRAK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, TELENJİEKTAZİK VENLERİN SKEROTERAPİSİNDE VENLİTE KULLANIMI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 11. TKDCD Uluslararası katılımlı kongresi, 27 Ekim 2010, 31 Ekim 2010.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, BANDİNG UYGULAMASIYLA GERÇEKLEŞTİRDİĞİMİZ BAŞARILI EKSTERNAL VALVÜLOPLASTİ OLGUMUZ, Basılı, V.ULUSAL FLEBOLOJİ KONGRESI, 08 Ocak 2010, 10 Ocak 2010.

Ö. TETİK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ABDOMİNAL AORT ANEVRİZMALARININ CERRAHİ TEDAVİSİ, Basılı, XIV Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi, 15 Mayıs 2009, 19 Mayıs 2009.

B. ÖZCEM & S. BAYRAK, AKSİLLER VE SUBKLAVİAN ARTER YARALANMALARI, Basılı, XIV Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi, 15 Mayıs 2009, 19 Mayıs 2009.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, ALT EKSTREMİTE DİSTAL BYPASS CERRAHİSİNDE SAFEN GREFTE EKLENEN SENTETİK GREFT 4 OLGU, Basılı, XIV Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi, 15 Mayıs 2009, 19 Mayıs 2009.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, EKSTRASELLÜLER MATRİKS PROTEİNLERİNİN İYİLEŞMESİ ZOR VENÖZ ÜLSERLERDE KULLANIMI VE SONUÇLARI, Basılı, XIV Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi, 15 Mayıs 2009, 19 Mayıs 2009.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, LOKAL ANESTEZİ ALTINDA VARİS CERRAHİSİ VE HASTA KONFORU, Basılı, XIV Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi, 15 Mayıs 2009, 19 Mayıs 2009.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, VENÖZ ÜLSERİ MEVCUT KRONİK VENÖZ YETMEZLİKLİ HASTALARDA PERFORAN LİGASYONUNUN YARA İYİLEŞMESİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ, Basılı, XIV Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi, 15 Mayıs 2009, 19 Mayıs 2009.

S. BAYRAK, Ö. TETİK, B. ÖZCEM & A. GÜRBÜZ, İZOLE SAFENOFEMORAL JUNCTİON YETMEZLİĞİNDE EKSTERNAL BANDİNG YÖNETİM, Basılı, XIV Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi, 15 Mayıs 2009, 19 Mayıs 2009.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ALT EKSTREMİTEDE UZUV KURTARIMININ SAĞLADIĞI GEÇ DÖNEM OLUŞUMLU PTFE GREFT İNFEKSİYONUN GELİŞMİŞ OLGULARIMIZ, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, DEV BOYUTLU VEJETASYONA SAHİP BRUCELLA ENDOKARDİTLİ OLGUMUZDA AORT KAPAĞINDA KOMİSSÜR PERFORASYONU GELİŞİMİ, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

A. GÜRBÜZ, S. BAYRAK & B. ÖZCEM, INCOMPLETE DOUBLE AORTİC ARCH SAĞ DOMİNANSLI A EŞLİK EDEN VSD PFO LU OLGUMUZDA KARDİYAK MRI İLE DİAGNOSTİK DEĞERLENDİRME, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, KALICI ENDOKAVİTER PACEMAKER LEAD İ ÜZERİNDEKİ DEV VEJETASYON OLGUSUNDA UYGULADIĞIMIZ BAŞARILI AÇIK CERRAHİ YAKLAŞIMLA ÇIKARILMASI GİRİŞİMİ, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, KALP CERRAHİSİNDEN SONRA BASİT AMA HAYAT KURTARICI BİR GELİŞME STERNUMUN AÇIK BIRAKILMASI, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

Ö. TETİK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, KAROTİKO SUBKLAVİYAN BYPASS GREFTLEME İLE SUBKLAVİYAN ARTERİN REVASKÜLARİZASYONU, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, KAROTİS ARTER YARALANMALARINDA PARSİYEL J STERNOTOMİ, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER & A. GÜRBÜZ, KORONER ARTER HASTALIKLARININ CERRAHİ SEÇENEKLERİNİN MALİYET YNÜNDEN KARIŞALTIRILMASI, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, KRONİK VENÖZ YETERSİZLİĞİ VE ÜLSERİ MEVCUT HASTALARDA PERFORAN VEN LİGASYONU SONUÇLARIMIZ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 10. TKDCD Ulusal Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK, O. GÖKALP, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, KRONİK VENÖZ YETMEZLİĞE BAĞLI STAZ DERMATİTİNDE HİDROJELLİ YARA BAKIM ÜRÜNLERİ, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, KRİTİK BACAK İSKEMİSİNE BAĞLI SEMPTOMLARI OLAN HASTALARDA İLİOMEDİN TEDAVİSİNİN AĞRI ÜZERİNDEKİ SONUÇLARI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 10. TKDCD Ulusal Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, MALİGNİTE HASTALARINDA OLUŞAN DVT TABLOLARINDA HEPARİN TERCİHİ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 10. TKDCD Ulusal Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

A. GÜRBÜZ, Ö. TETİK & S. BAYRAK, NADİR RASTLANAN İNTRAKARDİYAK KİTLELERİN DEĞERLENDİRİLMESİNDE MRI, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, İZOLE BÜYÜK VARİS PAKELERİNDE KÖPÜK SKLEROTERAPİ SONUÇLARIMIZ, Basılı, 10. Ulusal Kalp Damar Cerrahisi Kongresi, 17 Ekim 2008, 21 Ekim 2008.

S. BAYRAK, L. YILIK & A. GÜRBÜZ, DEVELOPMENT OF COMMISSURAL PERFORATION OF AORTIC VALVE IN OUR CASE OF BRUCELLA ENDOCARDITIS WITH GIANT VEGETATION, Basılı, The 16th Annual Meeting of the ASCVTS, 14 Mart 2008, 16 Mart 2008.

A. GÜRBÜZ, Ö. TETİK & S. BAYRAK, DIAGNOSTIC EVALUATION OF A CASE WITH SIANT SOLITARY RENAL CYST ACCOMPANYING ABDOMINAL AORTIC ANEURYSM, Basılı, The 16th Annual Meeting of the ASCVTS, 14 Mart 2008, 16 Mart 2008.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, GİANT VEGETATİON ON PERMANENT ENDOCAVİTARY PACEMAKER LEAD AND SUCCESSFUL OPEN INTRACARDİAC REMOVAL, Basılı, The 16th Annual Meeting of the ASCVTS, 14 Mart 2008, 16 Mart 2008.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ARTERİYEL KAN GAZINDAKİ PO2 DEGERİ İLE PULSOKSİMETRİ İLE ÖLÇÜLEN PO2 ARASNDAKİ FARKIN DEĞERLENDİRİLMESİ, Basılı, 9. ulusal kalp damar cerrahisi kongresi, 01 Kasım 2007, 05 Kasım 2007.

S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER & A. GÜRBÜZ, A PSEUDOANEURYSM AT THE DİSTAL OF TİBİOPERONEAL TRUNCUS DEVELOPED AFTER GUNHSOT INJURY A CASE REPORT, Basılı, 17th world congress 20th annual meeting of japan chapter, 12 Temmuz 2007, 13 Temmuz 2007.

A. GÜRBÜZ, S. BAYRAK & B. ÖZCEM, DIAGNOSTIC EVALUATION OF INCOMPLETE DOUBLE AORTIC RIGHT DOMINANCE VSD AND PFO COMORBITIES WİTH CARDIAC MRI, Basılı, 17th world congress 20th annual meeting of japan chapter, 12 Temmuz 2007, 13 Temmuz 2007.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, MODERN VASCULAR SURGERY AND CEMİL TOPUZLU IN THE MEMORY OF HİS DEATH S 50th YEAR, Basılı, 17th world congress 20th annual meeting of japan chapter, 12 Temmuz 2007, 13 Temmuz 2007.

S. BAYRAK, Ö. TETİK, B. ÖZCEM & A. GÜRBÜZ, SCLEROTHERAPY OF LOWER EXTREMIT VARİCES RELİEVİNG THE SYMPTOMS AND OPTİMAL COSMETİC RESULTS, Basılı, 17th world congress 20th annual meeting of japan chapter, 12 Temmuz 2007, 13 Temmuz 2007.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, SURGİCAL APPROACH TO THE PSEUDOANEURYSMS OF LOWER EXTREMITIS ARTERİES DEVELOPED AFTER GUNSHOT INJURİES, Basılı, 17th world congress 20th annual meeting of japan chapter, 12 Temmuz 2007, 13 Temmuz 2007.

S. BAYRAK, Ö. TETİK, B. ÖZCEM & A. GÜRBÜZ, ALT EKSTREMİTE VARİSLERİNDE SKLEROTERAPİ SEMPTOMLARI GİDERME VE OPTİMAL KOZMETİK DÜZELME, Basılı, 13. ULUSAL VASKÜLER CERRAHİ KONGRESİ, 22 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, ATEŞLİ SİLAH YARALANMASI SONRASI GEÇ DÖNEMDE ALT EKSTREMİTELERİN ÜÇ FARKLI SEGMENTİNDE GELİŞEN PSÖDOANEVRİZMALARDA CERRAHİ YAKLAŞIM, Basılı, 13. ULUSAL VASKÜLER CERRAHİ KONGRESİ, 22 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

S. BAYRAK, O. GÖKALP, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, ATEŞLİ SİLAH YARALANMASINA BAĞLI GELİŞEN DEV FEMORAL ARTER PSÖDOANEVRİZMASINA CERRAHİ YAKLAŞIM, Basılı, 13. ULUSAL VASKÜLER CERRAHİ KONGRESİ, 22 Mayıs 2007, 26

Mayıs 2007.

S. BAYRAK, A. ŞAHİN & A. GÜRBÜZ, KOMPRESSİF ETYOLOJİLİ BİR POLİTRAVMA OLGUSUNDA PERTHES SENDROMU, Basılı, 13. ULUSAL VASKÜLER CERRAHİ KONGRESİ, 22 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, PENETRE YARALANMALAR SONRASI GEÇ DÖEMDE GELİŞEN POPLİTEAL ARTERLERİN DEV PSÖDOANEVRİZMALARINDA CERRAHİ YAKLAŞIM, Basılı, 13. ULUSAL VASKÜLER CERRAHİ KONGRESİ, 22 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER & A. GÜRBÜZ, TİBİOPERONEALTRUNKUS DİSTALİNDE ATEŞLİ SİLAH YARALANMASI SONRASI GELİŞMİŞ PSÖDOANEVRİZMA OLGU SUNUMU, Basılı, 13. ULUSAL VASKÜLER CERRAHİ KONGRESİ, 22 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, İNTERNAL KAROTİD ARTER ANEVRİZMALARININ TANILANDIRIMINDA MANYETİK REZONANS ANJİYOGRAFİ, Basılı, 13. ULUSAL VASKÜLER CERRAHİ KONGRESİ, 22 Mayıs 2007, 26 Mayıs 2007.

A. GÜRBÜZ & S. BAYRAK, MODERN VASCULAR SURGERY AND CEMİL TOPUZLU IN THE MEMORY OF HİS DEATH S 50th YEAR, Basılı, The 15th Annual Meeting of Asian Society for Cardiovascular Surgery, 17 Mayıs 2007, 20 Mayıs 2007.

Ö. TETİK, G. İLHAN, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, RUPTURED ABDOMİNAL AORTİC ANEURYSMS FİVE YEARS EXPERİENCE, Basılı, The 15th Annual Meeting of Asian Society for Cardiovascular Surgery, 17 Mayıs 2007, 20 Mayıs 2007.

S. BAYRAK, Ö. TETİK, B. ÖZCEM & A. GÜRBÜZ, SCLEROTHERAPY OF LOWER EXTREMİTY VARİCES RELİEVİNG THE SYMPTOMS AND OPTİMAL COSMETİC RESULT, Basılı, The 15th Annual Meeting of Asian Society for Cardiovascular Surgery, 17 Mayıs 2007, 20 Mayıs 2007.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, SURGİCAL APPROACH TO THE PSEUDOANEURYSMS OF LOWER EXTREMİTİS ARTERİES DEVELOPED AFTER GUNSHOT INJURIES, Basılı, The 15th Annual Meeting of Asian Society for Cardiovascular Surgery, 17 Mayıs 2007, 20 Mayıs 2007.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, 80 YAŞ VE ÜSTÜ ACİL FEMORAL EMBOLEKTOMİ UYGULANAN OLGULARIMIZDAKİ KALP KAPAK PATOLOJİLERİ, Basılı, 9. ulusal kalp damar cerrahisi kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

L. YILIK, G. İLHAN, O. GÖKALP, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, AKUT TİP A AORT DİSEKSİYONLARINDA PREOPERATİF TANI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 9. ulusal kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

S. BAYRAK, İ. ÖZSÖYLER, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, KORONER ARTER HASTALIGININ CERRAHİ TEDAVİSİNİN ZAMANSAL ANALİZ YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 9. Ulusal Kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

S. BAYRAK, Ö. TETİK & A. GÜRBÜZ, KORONER ARTER HASTALIĞININ CERRAHİ TEDAVİSİNİN MALİYET VERİLERİNİN ANALİZİ, Basılı, 9. ulusal kalp damar cerrahisi kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

S. BAYRAK, Ö. TETİK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, OPCAB PROSEDÜRÜ İLE KONVASNSİYONEL CABG NİN PREOPERATİF KOMORBİD FAKTÖRLER YÖNÜNDEN KARŞILAŞTIRILMASI, Basılı, 9. ulusal kalp damar cerrahisi kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, OPCAB TEKNİĞİNİN HEMŞİRELİK HİZMETLERİNE YANSIMASI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 9. ulusal kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

S. BAYRAK, G. İLHAN & A. GÜRBÜZ, PULMONER KAPAĞA VE SAĞ VENTRİKÜLER RETROGRAD UZANIMLI PRİMERPULMONER ARTER İNTİMAL SARKOM OLGUSU, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 9. ulusal kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, SIĞIR ÜRETER GREFTİNİN HEMODİYALİZ AMAÇLI KULLANIMI, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 9. ulusal kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

L. YILIK, İ. ÖZSÖYLER, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, TİP A DİSEKSİYONDA YAN GREFT YOLUYLA KANÜLASYON İLE ANTEGRAD SEREBRAL OERFÜZYONDA BASINC KONTROLLÜ PERFÜZYONUN NÖROLOJİK ETKİLERİ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği 9. Ulusal Kongresi, 01 Kasım 2006, 05 Kasım 2006.

S. BAYRAK, Ö. TETİK, O. GÖKALP & A. GÜRBÜZ, ATHEROSKLEROTİK AORTOİLİOFEMORAL OKLUSİF HASTALIKLARDACERRAHİ TEDAVİ SONUÇLARIMIZ 108 HASTALIK SERİDE ORTA DÖNEM TAKİP VE İNCELEME, Basılı, XII. Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi 2005, 18 Eylül 2005, 22 Eylül 2005.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, SAĞ MİNİ TORAKOTOMİ İLE SAĞ ATRİYUMA KALICI KATETER YERLEŞTİRİLEN HEMODİYALİZ OLGULARI, Basılı, XII. Ulusal Vasküler Cerrahi Kongresi 2005, 18 Eylül 2005, 22 Eylül 2005.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, HEART İNJURİES OUR EXPERİENCE İN 80 PATİENTS, Basılı, 15th World Congress of the World Society of Cardio-Thoracic Surgeons (WSCTS 2005), 19 Haziran 2005, 23 Haziran 2005.

Ö. TETİK, G. İLHAN, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, TEK TARAFLI ATEROSKLEROTİK İLİAK ARTER HASTALIĞININ CERRAHİ TEDAVİSİ, Basılı, XII.ulusal vasküler cerrahi kongresi, 18 Mayıs 2005, 22 Mayıs 2005.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, AORT DİSEKSİYONU OPERASYONU SONRASI GERİLEMEYEN ALT KESTREMİTE MALPERFÜZYONU OLGU SUNUMU, Basılı, 8. TKDCD Ulusal Kongresi, 01 Ekim 2004, 05 Ekim 2004.

İ. ÖZSÖYLER, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, BRUSELLA ENDOKARDİTİ CERRAHİ ZAMANLAMANIN ÖNEMİ, Basılı, 8. TKDCD Ulusal Kongresi, 01 Ekim 2004, 05 Ekim 2004.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, DORSAL VENÖZ ARK DA VALV DESTRÜKSİYONU, Basılı, 8. TKDCD Ulusal Kongresi, 01 Ekim 2004, 05 Ekim 2004.

L. YILIK, S. BAYRAK, G. İLHAN & A. GÜRBÜZ, TRAVMATİK BRAKİYAL ARTER YARALANMALARI, Basılı, 8. TKDCD Ulusal Kongresi, 01 Ekim 2004, 05 Ekim 2004.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, İZOLE KAROTİS ARTER HASTALIĞI VE KAROTİS KORONER ARTER HASTALIĞININ BİRLİKTELİĞİNDE CERRAHİ TEDAVİ SONUÇLARIMIZ, Basılı, 8. TKDCD Ulusal Kongresi, 01 Ekim 2004, 05 Ekim 2004.

S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, KAPAK REPLASMANI CERRAHİSİ SONRASINDA ATRİAL FİBRİLASYON GELİŞİMİNİ ÖNLEMEDE DİGOKSİN METOPROLOL KOMBİNASYONU, Basılı, XIX. Ulusal Kardiyoloji Kongresi, 11 Ekim 2003, 14 Ekim 2003.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, 40 YAŞ VE ALTINDAKİ HASTALARDA UYGULADIĞIMIZ KORONER REVASKÜLARİZASYON SONUÇLARIMIZ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği VII. Ulusal kongresi, 23 Ekim 2002, 27 Ekim 2002.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, ERKEN DÖNEMDE İNTRAAORTİK BALON POMPASI KULANIMININ OLUMU ETKİLERİ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği VII. Ulusal kongresi, 23 Ekim 2002, 27 Ekim 2002.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, FEMOROPOPLİTEAL BYPASS CERRAHİSİNDE SON 5 YILLIK TECRÜBELERİMİZ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği VII. Ulusal Kongresi, 23 Ekim 2002, 27 Ekim 2002.

L. YILIK, İ. ÖZSÖYLER, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, KORONER BYPASS CERRAHİSİNDE RETROGRAD KARDİYOPLEJİ İÇİN BASINÇ GEREKLİ Mİ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği VII. Ulusal Kongresi, 23 Ekim 2002, 27 Ekim 2002.

L. YILIK, S. BAYRAK & A. GÜRBÜZ, KRONİK KONSTRİKTİF PERİKARDİTLERDE CERRAHİ UYGULAMALARIMIZ, Basılı, Türk Kalp Damar Cerrahisi Derneği VII. Ulusal kongresi, 23 Ekim 2002, 27 Ekim 2002.

TÜBİTAK Burs ve Destekleri

Panelistlik/İzleyicilik/Raportörlük Sayısı

Hakemlik/Panelistlik/Dış Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
İzleyicilik/Danışmanlık Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0
Raportörlük Sayısı	ARDEB/BİDEB 0	TEYDEB 0	Toplam 0