



**T.C.
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİMDALİ**

**MEME KANSERİ ÜZERİNE SURVİVİN GENİ 1547A/G
(rs3764383) PROMOTOR POLİMORFİZMİNİN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hüseyin ŞAHİN

ANKARA 2014



**T.C.
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GENEL CERRAHİ ANABİLİMDALI**

**MEME KANSERİ ÜZERİNE SURVİVİN GENİ 1547A/G
(rs3764383) PROMOTOR POLİMORFİZMİNİN ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hüseyin ŞAHİN

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Önder SÜRĞİT**

ANKARA 2014

TEŞEKKÜR

Genel Cerrahi uzmanlık eğitimi süresince;

Bilgi ve tecrübelerini aktararak yetişmemde büyük emeği olan ve ayrıca tezimin her aşamasında engin tecrübesiyle yolumu her an aydınlatan gerek mesleki, gerekse insanlık açısından benim ve birçok hekim arkadaşımın örnek alması gereken müstesna bir insan olan değerli büyüğüm Prof. Dr. Cenap Dener'e

Bilgi ve tecrübelerini aktararak cerrahinin temel esaslarını bana öğreten ve yetişmemde büyük emeği olan güldürürken düşündüren, gerek mesleki, gerekse insanlık açısından bizlere yön veren değerli büyüğüm fakültemiz Dekan'ı, Prof. Dr. Mikdat Bozer'e,

Gerek mesleki, gerekse insanlık açısından bilgi ve tecrübelerini aktararak, engin hoşgörü ve sabrıyla bizlere her zaman en iyiyi ve olması gerekeni öğretmeye çalışan hocadan çok her zaman bizlere abilik yapan değerli büyüklerim Prof. Dr. Aydın İnan'a ve tezimin her aşamasında engin tecrübesiyle yardımlarını esirgemeyen tez hocam Doç. Dr. Önder Sürgit'e

Gerek mesleki, gerekse insanlık açısından bilgi ve tecrübelerini aktararak, engin hoşgörü ve sabrıyla bana her zaman en iyiyi ve olması gerekeni öğretmeye çalışan hocadan çok her zaman bizlere abalık yapan değerli büyüğüm Doç. Dr. Meral Şen'e,

Birlikte çalıştığım uzman abilerimize, cerrahinin zor ve ciddi emek isteyen ama bir o kadar da eğlenceli olan çetin yollarında birlikte omuz omuza yürüdüğümüz asistan arkadaşlarıma,

Büyük bir saygı ve sevgi ile birlikte çalıştığımız hemşire, servis ve ameliyathane personeline kadar herkese teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim...

Tezimin belirlenmesinde ve genetik ayağının oluşmasında ve yürütülmesinde büyük emeği olan Tıbbi Genetik Bölümü öğretim görevlisi Doç. Dr. Esra Gündüz'e ve Yrd. Doç. Dr. Muradiye Acar'a ve genetik bölümü asistan ve diğer personel arkadaşlara teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her döneminde destekçilerim olan, hayatın onca zorluğuna ve imkansızlığına göğüs gererek beni yetiştirip bugünlere gelmemde hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, hayatımın bugününü onlara borçlu olduğum dualarını benden hiçbir zaman

esirgemeyen anneme, merhum babama, ablalarım ve kardeşime,

... Ve son olarak da bir genel cerrahi asistanının eşi olmanın tüm zorluklarını yaşayan, zor günlerimde hep yanımda olan hayatımın anlamı, yaşama sevincim moral ve neşe kaynağım biricik sevgilim, eşim Dr. Kamile Şahin'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Hüseyin ŞAHİN

Bu alışma Turgut zal Üniversitesi Tıp Fakóltesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu tarafından desteklenmiştir. BAP koordinasyon kuruluna sağladığı finansal destek nedeniyle ayrıca teşekkür ediyorum...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	iv
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. MEME KANSERİNİN TARİHÇESİ	3
2.2. MEME KANSERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ.....	6
2.3. MEME KANSERİNDE MORTALİTE	6
2.4. TÜRKİYEDE KANSER MORTALİTESİ	7
2.5. MEME KANSERİNİN ETYOLOJİSİ.....	7
2.5.1. Genetik ve Aile Öyküsü	8
2.5.2. Endokrin Nedenler.....	10
2.5.2.1. Reprodüktif Faktörler	10
2.5.2.2. Hormonal Faktörler.....	11
2.5.3. Çevresel Faktörler	12
2.5.3.1. Sigara	12
2.5.3.2. Besinlerdeki Yağ Miktarı.....	13
2.5.3.3. Vücut Ağırlığı	13
2.5.3.4. Vitaminler	13
2.5.3.5. Alkol	14
2.5.4. Diğer Risk Faktörleri	15
2.6. KANSER GENETİĞİ	15
2.6.1. Kanser Genetiğinde Temel Kavramlar	16
2.6.2. Kanserlerde Onkogen Aktivasyonu.....	21
2.6.3. Nokta Mutasyonları	21
2.6.4. Kromozomal Yeniden Düzenlenmeler	22
2.6.5. Gen Amplifikasyonu	23

2.6.6. Tümörlerde “Onkogen Bağımlılığı”	23
2.6.7. Telomerler ve Telomeraz Onkogeni	24
2.6.8. Protein kodlamayan proto-onkogenler ve tümör süpresör genleri: mikroRNA’lar (miRNA’lar)	24
2.6.9. Kanser ve Epigenetik Değişiklikler	25
2.7. HÜCRE SIKLUSU VE KANSER	27
2.7.1. Normal Hücrelerde Hücre Siklusu	28
2.7.2. Hücre Siklus Kinazları	30
2.7.3. Normal Hücrelerde G ₁ -S Geçisi	31
2.7.4. Normal Hücrelerde G ₂ –M Geçisi	33
2.7.5. DNA’sı Hasarlı Hücrelerin G ₂ –M Geçisi	34
2.7.6. Normal Hücrelerde Mitoz İplikçik Kontrol Noktası	35
2.7.7. Kanser ve Kontrol Noktası İnaktivasyonu	36
2.7.8. DNA’sı Hasarlı Kanser Hücrelerinde G ₁ –S Geçisi	36
2.7.9. p53 Aracılı Apoptosis	38
2.7.10. Apoptozise Karsı Mekanizmalar	39
2.7.11. Apoptozis Kontrol Noktaları	39
2.7.12. Kanser Hücrelerinde G ₂ –M Geçisi	40
2.7.13. Kanser Hücrelerinde Mitoz İplikçik Kontrol Noktası	41
2.7.14. Kanser Hücrelerinde Sentriol Anomalileri	42
2.8. GEN POLİMORFİZMİ VE KANSERE YATKINLIK	42
2.8.1. Hücre Döngüsü ve Polimorfizm	43
2.8.2. Farklılaşma ve Polimorfizm	47
2.8.3. DNA Onarımı ve Polimorfizm	49
2.8.4. Apoptozis ve Polimorfizm	50
2.8.5. Metastaz ve Polimorfizm	52
2.9. APOPTOZİS	54
2.9.1. Apoptozis Tanımı	54
2.9.2. Apoptotik Ölüm Basamakları	56
2.9.3. Apoptozisin mekanizması	57
2.9.4. Apoptozisin Farklı Formları	62
2.9.5. Apoptozis ve Nekrozisin Farkları	65

2.9.6. Apoptozis Mekanizmasının Sınırları	66
2.9.7. Apoptozisin Biyokimyasal Özellikleri	67
2.9.8. Kaspazların Aktivasyonunun Genel Özellikleri	69
2.9.9. Kaspaz Bağımsız Apoptozis	70
2.9.10. Apoptozisin Engellenmesi	71
2.9.11. Apoptozisin Anormaliteleri ve Hastalıklar	72
2.10. Apoptoz İnhibitör Gen Ailesi (IAP)	75
2.10.1. Survivin Yapı ve Fonksiyonu	76
2.10.2. Hücre Ölümünde Survivinin Rolü	78
2.10.3. Hücre Bölünmesinde Survivinin Rolü	80
2.10.4. Survivinin Kanserde Seçici Ekspresyonu	80
2.10.5. Survivin ve Kanserin Moleküler Tanısı	82
3. MATERYAL-METOD	83
3.1. Parafin Bloktan DNA İzolasyonu	83
3.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu	84
3.3. DNA Amplifikasyonu	85
3.3.1. Primerlerin Sulandırılması	85
3.3.2. Reaksiyon Karışımı	85
3.4. Agaroz Jel Elektroforezi	86
3.5. DNA'nın Enzimatik Kesimi ve Polimorfizmin Belirlenmesi	87
3.5.1. SURVIVIN A>G(rs 3764383) Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi	87
5. TARTIŞMA	98
6. SONUÇ	105
ÖZET	106
SUMMARY	108
KAYNAKLAR	110

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

MÖ	: Milattan Önce
MS	: Milattan Sonra
RM	: Radikal Mastektomi
CGH	: Komperatif Genom Hibridizasyonu
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmleri
XME	: Ksenobiyotik Metabolizmasındaki Enzimleri
BRCA	: Breast Cancer Susceptibility Gene (meme kanserine yatkınlık geni)
HER	: Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü
HRT	: Hormon Replasman Tedavisi
HMGB	: High mobility group protein B
HDGF	: Hepatoma derived growth faktör
PRC	: Replikasyon öncesi kompleks
ANGPT	: Anjiyopoyetin
CDK	: Siklin Bağımlı Kinaz
CDKN	: Siklin Bağımlı Kinaz İnhibitör
CHEK2	: Hücre döngüsü denetim noktası kinazı
Cip/Kip ve INK4/ARF	: Hücre döngüsü inhibitörü ailesi
E2F	: Transkripsiyon uzama faktörü 2
HIF-1α	: Hipoksiyle indüklenen faktör-1 alfa
MMP	: Matriks metalloproteinaz
RA	: Retinoik asit
RAR	: Retinoik asit reseptörü
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü;
XPC/XPD/XRCC1/XRCC3	: DNA onarımında görev alan genlerden bazıları
IAP	: Apoptoz İnhibitörü Proteinler
WHO	: World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)
CDE/CHR	: Cell Cycle Dependent Element / Cell Cycle Gene Homology Region

RB	: Retinoblastoma
BIR	: Baculovirus IAP Repeat (Baculovirus Inhibitor Of Apoptosis Protein Repeat)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RE	: Restriksiyon Enzimleri
cDNA	: Komplementer DNA
TNF	: Tümör Nekroz Faktör
MRM	: Modifiye Radikal Mastektomi
MF	: Multifokal
MS	: Multisentrik
DCIS	: Duktal Karsinoma İn Situ
LCIS	: Lobuler Karsinoma İn Situ
CA	: Kanser
HNPCC	: Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1.	Kanser gelişiminde birkaç genin nasıl işbirliği yaptığını göstermektedir	16
Şekil 2.	Knudson'ın iki vuruş hipotezi.....	19
Şekil 3.	Kolon kanserinde molekuler düzeyde çok aşamalı gidiş.....	21
Şekil 4.	Dokuz ve 22. kromozomlar arasında gelişen karşılıklı translokasyon sonucunda Philadelphia kromozomu oluşumu	22
Şekil 5.	DNA hasarının nedenleri, hüresel yanıtlar ve sonuçları	26
Şekil 6.	Hücre siklusu ve kontrol noktaları.....	29
Şekil 7.	Hücre siklusu siklin ve CDK (Siklin bağımlı kinazlar) tarafından düzenlenir.....	33
Şekil 8.	Apoptozis kontrol noktaları	40
Şekil 9.	GI ve S evresi siklin molekülleri ile büyüme faktörü (bölünme uyarısı) ve döngü engelleyicileri arasındaki ilişkiler.....	43
Şekil 10.	Karsinogenezis'de apoptozis ile ilgili olabilecek genler/proteinler.....	47
Şekil 11.	Apoptozun mekanizması.....	62
Şekil 12.	Hücre içi ve hücre dışı yollarla uyarılan apoptozun biyokimyası	69
Şekil 13.	Survivin geni 1547 A/G (rs3764383) polimorfizminin yerleşim lokalizasyonu	78
Şekil 14.	Apoptozisin yürütülmesinde survivin rolü	79
Şekil 15.	Hasta gruplarının PCR amplifikasyon ürünlerinin Agaroz jel elektroforez görüntüleri. (-K, kontrol amaçlı)	87
Şekil 16.	SURVIVIN genipolimorfizminin enzim kesimine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü. Bu örneklerin genotipleri 177=GG, 204=GA, 205=AA	88
Şekil 17.	Kontrol ve Kanser Gruplarına Göre Olguların Survivin 1547-A/G Promotor Polimorfizmi Yönünden Yüzdesel Açından Şematik Dağılımı	90

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1.	Çeşitli ailesel kanserlerde ve sporadik tümörlerde inaktive olan tümör süpresör genleri	18
Tablo 2.	Çeşitli kanserlerde LOH saptanan kromozomal bölgeler ve içerdikler tümör süpresör genler	20
Tablo 3.	Survivin geni polimorfizmleri.....	78
Tablo 4.	PCR reaksiyon karışımı	86
Tablo 5.	Çalışılan PCR programı	86
Tablo 6.	Hpy166 II enzimi için kesim koşulları.....	88
Tablo 7.	Kontrol ve Kanser Gruplarına Göre Olguların Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı	89
Tablo 8.	Kanser Grubunda Olguların Grade İle Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı	91
Tablo 9.	Kontrol ve Kanser Gruplarına Göre Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri Yönünden Dağılımı	92
Tablo 10.	Kanser Grubu İçerisinde Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Olguların Patolojik Özellikleri.....	94
Tablo 11.	Kanser Grubunda Lenfatik Metastazı Olan Grubun Lenf Metastaz Grubu İle Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı	95
Tablo 12.	Kanser Grubunda ER durumunun Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı	96

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Meme kanserine bağlı ölümler, akciğer ve kolorektal kanserlerden sonra üçüncü sırayı almaktadır. 40-44 yaş grubundaki kadınlarda ise en sık ölüm sebebidir. Yakın zaman önce bulunan ve BIRC5 olarak da bilinen survivin, IAP (Apoptozis İnhibitör Protein) ailesinin üyesi olan, hücre bölünmesini düzenleyen ve apoptozisi baskılayan çift fonksiyonlu bir antiapoptotik proteindir. Genellikle embriyonik dokuda ve fetal dokuda aşırı eksprese olan survivin normal dokuda tayin edilemeyecek kadar az eksprese olur. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda mesane, kolon, kolorektal, akciğer, mide ve meme kanserlerinde survivin genin aşırı eksprese olduğu bulunmuştur (124,158). Survivin hücre döngüsünün G2/M fazında ifade edilerek hücrenin bölünmesini sağlar. Survivin proteini, apoptozisi inhibe ederek ve hücre proliferasyonunu arttırarak tümör oluşumunu ve ilerlemesini sağladığı düşünülmektedir (123). Survivin'in aşırı ekspresyonunun, kısalmış sağkalm ile ilişkili olmasının yanında kemoterapiye veya radyoterapiye dirençli olan tümörlerin artmış rekürrens hızı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (169). Survivin'in akciğer, mide, kolon, meme, prostat, non-Hodgkin lenfoma gibi bir çok kanser türünde eksprese olduğu gözlenmiştir (124). Survivin'in mitoz ve apoptozisdeki görevleri, bu proteinin, tümörün büyüme potansiyeli olan hücrelerinde eksprese edildiğini ve tümör oluşması ile tümörün büyümesinde etkili olduğunu düşündürür. Bu açıdan Survivin, potansiyel bir kanser markerıdır. Survivin, mesane kanseri olan hastaların idrarında tesbit edilmiş. Böylece survivinin spesifik ve sensitif bir diagnostik gösterge olduğu saptanmıştır (123). Kolorektal karsinomlu ve nöroblastomlu hastalarda yapılan immunohistokimyasal çalışmalarda, hastalığın kötü gidişatı ile Survivin ekspresyonu arasında klinik korelasyon olduğu, dolayısıyla da Survivin'in potansiyel bir prognostik faktör olabileceği düşünülmüştür (174). Yüksek survivin düzeyi, tümürlü hastalar için negatif bir prognostik faktördür. Survivin gen ifadesinin düzenlenmesi transkripsiyon, translasyon gibi çeşitli aşamalarda kontrol edilmektedir. Survivin geninin promotör bölgesinde yer alan tek nükleotitik polimorfizmler (SNPs), survivin gen ifadesini ve kontrolünü etkiler. Bugüne kadar survivin geninin promotör bölgesinde 5 polimorfizm tanımlanmıştır. Bunlar; **-1547 A/G**, **-644 C/T**, **-625 C/G**, **-241 C/T** ve **-31 G/C**

polimorfizmleridir.

Bunların içinden bizim çalışmamızda araştırdığımız Survivin promotor 1547A/G polimorfizmidir. Survivin promotor 1547A/G gen polimorfizmi ile literatürde sadece küçük hücreli akciğer kanseri ve over kanseri ile ilgili toplam 2 adet yapılmış çalışma bulunmaktadır (177,180). Survivin'in 1547A/G promotor polimorfizmine sahip over kanserli hastalarda, hastalığın başlangıcınında genç yaşta olduğu gösterilmiştir. Survivin'in 1547A/G promotor polimorfizmine sahip küçük hücreli akciğer kanseri olan hastalarda, hastalığın kötü prognozlu olduğu istatistiksel olarak güçlü bir şekilde gösterilmiştir. Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada, meme kanserlerinde ve kontrol grubunda Survivin 1547A/G promotor polimorfizmini araştırdık. Bunun için, hastanemizde ameliyat edilmiş olan meme kanserli hastaların patolojik spesmenlerindeki tümörlü dokulardan almış olduğumuz örneklerde ve 30 yaş üstü sağlıklı kadınlardan kişisel onamları alındıktan sonra alınan kan örneklerinde, Survivin geni 1547A/G promotor polimorfizmini araştırdık. Elde ettiğimiz verilerle, bu polimorfizmin meme kanserine yatkınlık yaratıp yaratmadığını ve yine bu polimorfizmin meme kanserli hastaların prognozuyla olan ilişkisini araştırmayı amaçladık. Ayrıca bu çalışma, Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi meme kanserleri arasındaki ilişkinin incelenmesi bakımından bildiğimiz kadarıyla literatürdeki ilk çalışmadır.

Kanser, hücrede moleküler değişikliklerle karakterize genetik bir hastalıktır. Bu nedenle, kanser gelişimi ya da kansere yatkınlıkla ilgili genlerin ve bu genlerdeki polimorfizmlerin belirlenmesi, şüphesiz pek çok kanserin erken tanısı ve tedavisinde yararlı olduğu gibi meme tümörlerinde de oldukça önem taşımaktadır. Hastalıkların genetik temelleri ve hastalıkla ilgili moleküler mekanizmaların aydınlatılması ile hedefe yönelik spesifik tedavi hedefleri belirlenebilecektir. Meme kanserinde ise, genomik düzeyde sık tekrarlayan bir polimorfizmin saptanması hem erken tanıda hem de tedavinin spesifikleştirilmesinde yol gösterici olabilir. Böylece daha az yan etkisi olan, hedefe yönelik spesifik tedaviler uygulanabilecek ve hastalığın tamamen eradikasyonu sağlanabilecektir. Bu açıdan bakıldığında çalışmamızın meme tümörlerinin tanısında, patogenezinde, prognozunda ve tedavisinde Survivin'in önemini araştırarak yeni çalışmalara da ışık tutacağı kanaatindeyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. MEME KANSERİNİN TARİHÇESİ

Meme kanserinin tanı ve tedavisinin tarihsel evriminin bilinmesi önemlidir. Zira ilk defa tanımlanan veya gerçekleştirilen pek çok yenilik, tedavi modeli veya teori başlangıcını meme kanseri ile yapmıştır. Meme, muayene ederken göz ve elle ulaşılması en kolay organlardan biri olduğundan bu organda ortaya çıkan patolojik değişiklikler ilk çağlardan beri insanların ve hekimlerin dikkatini çekmiş dolayısıyla da önemli gözlemlerin yapılmasını sağlamıştır.

Milattan önce 3000- 2500 yılları arasında Eski Mısır'da İmhotep tarafından yazıldığı tahmin edilen tıbbi bir papirusta meme kanseri ile ilgili ilk kayıtlara rastlanmıştır (1). İmhotep kanamayı durdurmak için koterizasyon (kızdırılmış demir aletleri ile) ve damarları bağlama tekniğini geliştiren hekimdir (2). Hipokrat kanlı meme başı akıntısı ile gelen meme kanserli bir hastayı da tanımlamış ve menopoz ile meme kanseri arasındaki ilişkiyi belirlemiştir (1). Teb şehrinde 1862 yılında Edwin Smith tarafından bulunup okunan bu papiruslar, M.Ö. 3000 yıllarına aittir. 48 vaka içeren bu papiruslarda abse, travma, infekte yaralar ve tümör hakkında bilgiler verilmiştir. Vakalardan 8'i tümörü düşündürmektedir. Bu vakalar sert, dokunulduğunda soğuk, sıvı içermeyen bu nedenle abse ve inflamasyonlardan ayrılanlar olarak tarif edilmiş, tedavi olanağının da bulunmadığı belirtilmiştir.Yalnız bir hastada yanan bir odunla koterizasyon denenmiştir. Daha sonra M.Ö. 1500 yılına ait Eber papiruslarında ise meme kanserine ait herhangi bir kayıta rastlanmamıştır.Hamurabinin; hastasının ölümüne sebep olan doktorun da öldürülmesini kabul eden kanunu; Hipokrat'ın ise diğer kanserler gibi meme kanserlerinin de cerrahiden yarar görmez tavsiyesi, hekimleri meme kanseri ile uğraşmaktan bir süre alıkoymuştur (3).

MS 30'da Roma'lı Celsus, iltihabın dört kardinal belirtisi tanımlamıştır. Ayrıca meme kanserinin 4 evresini; erken kanser, ülcersiz kanser, ülserli kanser, karnabahar şeklinde ülserli kanser şeklinde tanımlamış ve adeta bugün TNM sınıflamasında T1, T2-T3-T4 tümörleri tarif etmiştir. Celsus erken kanser dışındaki meme kanserlerine cerrahi uygulanmaması gerektiğini savunmuştur (1).

İlk kez İskenderiyeli Leonides M.S.100.yıllarda birbirini izleyen kesi ve

koterizasyon yaparak sağlam meme dokusu ile tümörü çıkarmıştır. Ebu Kasım (10.yy), Mondeville(13.yy) ve Lanfranc, Leonides'in tekniğini geliştirmişlerdir. 16.ve 17. yy'da önce Fabry sıkıştırarak meme amputasyonu yapan bir alet geliştirmiş daha sonra Arceo ilk kez memenin cerrahi yolla çıkarıldığı mastektomi ameliyatını tarif etmiş; Cabrol buna büyük pektoral kasın çıkarılmasını eklemiştir. Kısa bir süre sonra ise Severinus koltuk altı disseksiyonunu eklemiştir (3,4).

Ortaçağ'da Aegina'lı Paul (MS 625) ve Milano'lu Lanfranc (MS 1250) yazdıkları kitaplarda meme cerrahisi hakkında oldukça geniş bilgiler vermişlerdir. Razi meme kanserinin tüm olarak çıkarılabildiği durumlarda cerrahi tedavi ve alttaki dokuların koterizasyonunu önermiştir. İbni Sina'nın "Kanun Fil Tıbb" isimli kitabı asırlar boyunca tek referans kitabı olarak Avrupa'da geçerliliğini korumuştur (2,5,6). Vesalius meme kanseri için mastektomi tavsiye etmiştir (1). 16.yüzyılın başlarında yaşamış olan ve devrinin en büyük cerrahi olarak kabul edilen Ambrose Pare yüzeysel ve küçük tümörlerin sadece eksizyon ile tedavi edilebileceğini ancak büyük tümörlere kurşun plakalar koyarak dolaşımının yavaşlatılması gerektiğini bildirmiştir (2).

W.Fabry ve J.Schultes 16.yüzyılın sonlarında yazdıkları kitaplarda meme ameliyatının bütün teknik safhalarını detaylı bir şekilde anlatmışlardır. 17. ve 18.yüzyıl Avrupasında kanama ve infeksiyonlar nedeniyle meme ameliyatları tehlikeli ve ölümcül kabul edilmiş ancak deneyimli cerrahlar tarafından yapılması önerilmiştir. Bu dönemde memenin ve aksiller lenf nodüllerinin anatomisi ve ilişkisi anlatılmış ve kanser ameliyatları sırasında çıkarılması kabul görmüştür (1,6,7).

Halsted'in 19.yy.'ın sonlarında; Baltimor Johns Hopkins hastahanesinde oluşturduğuameliyathanesinde radikal mastektomilerini (RM) uygulamasıyla ve meme kanserinin lokal bir hastalık olduğunu ve o bölgenin ve bölgesel lenf ganglionlarının alınmasının tedavi için yeterli olduğunu söylemesi ile başlayan meme cerrahisi ameliyatları tüm dünyada uzun yıllar kullanılmış, ancak meme kanserinin sistemik bir hastalık olduğunun ispatlanmasıyla değişiklik göstermiştir. Halsted kendi adı ile tanımlanan bu teorisine dayanarak Halsted mastektomisi olarak da bilinen radikal mastektomiyi tariflemiştir. Halsted RM'sinde prensip olarak meme, üzerini örten cilt, majör ve minör pektoral kaslar ve aksiller doku bir bütün olarak çıkarılmakta ve cilt defekti greft ile kapatılmaktadır. Daha sonra, bir yandan çıkarılan kısımlar genişletilirken (geniş radikal mastektomi) diğer yandan modifiye radikal mastektomi,

basit mastektomi gibi sınırlı meme amputasyonları yapılmaya başlanmıştır (8).

N.Y. Presbyterian hastahanesinde memenin fizik muayenesini standardize etmiş, Colombia klinik sınıflamasını oluşturmuş ve inoperabilite kriterlerini koyarak RM'nin lüzumsuz yere uygulanmasını engellemiştir. Bu çalışmalar TNM sınıflamasının esasını oluşturmuş ve 1954'de International Union Against Cancer ilk TNM sınıflamasını yapmıştır (9). Londra'da D.H.Patey ve R.S.Handley, "major pektoral kas tümör tarafından istila edilmedikçe çıkarılmamalı" tezini ortaya atmış ve modifiye radikal mastektomi tekniğini geliştirmiştir. Böylece RM'nin neden olduğu büyük deformitelerin kısmen de olsa önüne geçilmiştir (1).

Mammografi meme kanserinin erken tanısını sağlayan en önemli keşiftir. A.Salomon Almanya'da 1913'de, S.L.Warren Newyork'da ilk Mammografi denemelerini yapmışlar ancak R.Egan'ın yumuşak doku tekniğini geliştirmesinden sonra yaygın olarak kullanıma girmiştir. Ultrasonografi 1950'li yıllarda, ışın vermeden birçok lezyonun saptanmasını sağlayan bir yöntem olarak kullanılmaya bağlanmış, bunu manyetik rezonans görüntülemesi ve PET gibi daha sofistike yöntemler izlemiştir (1,9).

20.yüzyıl bittiğinde hala meme kanserinin gerçek nedeni saptanamamıştır. Buna karşılık tümörün oluşmasına yol açabilecek hücrel büyüme faktörlerini, hücre içi haberleşme yollarını, hangi genlerin ne tür bozulmalar ile karşılaşılırsa meme kanserine yol açabileceklerini ve genlerin ifade ettikleri proteinlerini öğrendik.21. yüzyılın başında insan genomunun çözümlenmesi için uygulanan ileri teknoloji, genetik laboratuvarları tarafından kullanılmaya başlandı. Böylece gen ekspresyon taramalarını komperatif genomhibridizasyonu (CGH) veya tek nükleotid polimorfizm taraması (SNP) izledi. Bu teknolojiler ile tek defada onbinlerce genetik lokasyon taranabilmektedir. SNP, DNA'nın polimorfik sekanslarını da inceleyebildiği için daha yararlı olmaktadır.

Bu teknikler ile yapılan genetik ve moleküler araştırmalar bize meme kanserinin tek tip bir hastalık olmadığını, östrojen ve progesteron reseptörlerinin ve Cerb B-2 nin (+) veya (-) olduğuna göre "luminal hücreli" ve "bazal hücreli" olmak üzere 2 alt grubun bulunduğunu öğretti. Meme tümörünün biyolojik davranışı ve çeşitli kemo-normoterapilere nasıl cevap vereceği bu yeni moleküler sınıflama ile önceden saptanabilir hale geldi. Özellikle genomik çalışmalar ilerledikçe meme kanserinin genetik temelleri ve hastalıkla ilgili moleküler mekanizmaların aydınlatılması ile

potansiyel tedavi hedefleri de belirlenebilecektir. Bu sayede daha az yan etkisi olan, hedefe yönelik spesifik tedaviler uygulanabilecek ve hastalığın tedavisinin sağlanması mümkün kılınabilecektir.

2.2. MEME KANSERİNİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında görülen en yaygın kanser türü olup, her yıl dünyada 1 milyon yeni olguya tanı konmaktadır. Kadınlarda görülen yeni kanser olgularının yaklaşık %20'sini oluşturur (10,11). Yaşa bağlı en yüksek görülme oranı yılda her 100.000 kadında 86.3 ile Kuzey Amerika'da, en düşük oran ise 11.8 ile Çin'de görülmektedir. Meme kanseri sıklığı ülkeler arasında farklılık göstermekte ve bu fark özellikle menopoz sonrası kadınlarda daha belirgin şekilde ortaya çıkmaktadır (12).

Meme kanseri 50 yaşına kadar yaş artışına paralel olarak dik eğimle yükseliş gösterirken daha sonra bu artış oranı azalır. Meme kanseri görülme sıklığı 1973'den itibaren dünyanın çeşitli ülkelerinde %1-2 oranında bir artış göstermektedir (13). Görülme sıklığındaki yıllık artış, düşük riskli toplumlarda daha belirgindir. Bu nedenle zaman içinde batı ülkelerinde yaşayan kadınlarla, doğu toplumlarındaki kadınlar arasındaki meme kanseri sıklığı farkının kapanacağı öngörülmektedir (14). İnsidansta en büyük artış Kanada, ABD, İspanya ve İsveç'te (1960-1975 yılları arasında %1.8) ortaya çıkmıştır. Amerikalı bir kadında yaşam süresi boyunca meme kanseri gelişme olasılığı %12.5, meme kanserinden ölüm olasılığı %3.4 olarak hesaplanmıştır (15).

2.3. MEME KANSERİNDE MORTALİTE

1950'den beri bir yandan meme kanser insidansı artarken diğer yandan bu artışa paralel olarak mortalite oranı da artmış ve kadınlarda kansere bağlı ölümler %18'e ulaşmıştır. İnsanlarda genel olarak meme kanserine bağlı ölümler, akciğer kanseri ve kolorektal kanserlerden sonra üçüncü sırayı almaktadır. Kadınlarda kansere bağlı ölüm nedenleri ile yaş grupları arasındaki ilişki araştırıldığında 40-44 yaş arasında meme kanserinin birinci sırayı aldığı görülmektedir. Görülme sıklığı yanında mortalite de yaşa bağlı olarak artmakta ve 80 yaşındaki 100.000 kadından 155'i meme kanserinden ölmektedir (14). Menopoz sonrası yıllarda mortalite, nedeni açıklanamamakla beraber; Japonya'da azalırken, Yugoslavya'da sabit kalmakta, ABD'de ise giderek artmaktadır (12). Göç eden insanlarda zaman içinde oluşan mortalite değişikliği meme kanseri oluşumunda

çevresel etkenlerin ve yaşam tarzının önemli faktörler olduğu görüşünü desteklemektedir. ABD’de ve Hawai’de doğan veya yaşayan Japonlarda meme kanserine bağlı mortalitenin, Japonya’da doğan veya yaşayan Japonlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır (14). Meme kanserinde mortalite oranı 1973’den 1990’a kadar yaklaşık sadece %1.5 artışla sabit kalırken 1991’den itibaren meme kanseri mortalitesinde yıllık %1 azalma olmuştur. Bu iyileşme taramaya; tedaviye ve yaş, hormonal durum ve karsinogen teması gibi toplumdaki demografik değişikliklere bağlanabilir (12).

2.4. TÜRKİYEDE KANSER MORTALİTESİ

Gelişmiş ülkelerde olduğu gibi Türkiye’de de 1990-1995 yılları arasında en sık ölüm nedeni kardiyovasküler sistem olup ikinci sırada kanser yer almaktadır. Süreç içinde enfeksiyon hastalıkları daha iyi kontrol altına alınmıştır. Çünkü tanınan olanaklar ve toplumsal bilinç artmıştır. Sağlık Bakanlığı kanser kayıt verilerine göre; 1994’de 12.124 erkek ve 7976 kadın olmak üzere toplam 20.100 kanser olgusu bildirilmiştir. Erkeklerde en sık karşılaşılan üç kanser türü akciğer kanseri, lösemi- lenfoma ve mide kanseri iken kadınlarda ise meme kanseri, lösemi-lenfoma ve uterus kanseridir. 1975-1978 ile 1994 yıllarına ait kanser istatistikleri kıyaslandığında; akciğer kanseri %14’den %28’e yükselirken, kadınlarda meme kanseri %11.5’den %14.5’e yükselmiştir. Kadınlarda meme kanseri mortalitesi 1980’den 1995 yılına kadar olan dönemde giderek artmış ve akciğer kanserinden sonra ikinci sıraya yükselmiştir (16).

2.5. MEME KANSERİNİN ETYOLOJİSİ

Meme kanserinin etyolojisinde aydınlatılamamış pek çok nokta bulunmakla beraber; genetik ve çevresel koşulların rol oynadığı düşünülmektedir. Karsinogen metabolizması için biyosentetik yollarda ve steroid hormon metabolizmasında kişiler arasında önemli farklılıklar vardır (17). Bu farklılıklar ksenobiyotik metabolizmasındaki enzimleri (XME) kodlayan genlerdeki polimorfizmlerden kaynaklanmaktadır. XME gen polimorfizmleri; yaşamı boyunca östrojen, östrojen metabolitleri ve diğer karsinogenlerden etkilenen kadınların alt popülasyonunu belirleyebilir (18). Bu gibi değişiklikler reproduktif olaylar, hormon maruziyeti ve bununla beraber yaşam şekli ve çevresel risk faktörleri gibi diğer risk faktörlerinin de meme kanseri ile ilişkisini kısmi

olarak açıklamaktadır (19).

2.5.1. Genetik ve Aile Öyküsü

Genetik faktörler meme kanserinin etyolojisinin yaklaşık dörtte birini oluşturmaktadır (20). İsveçli, Danimarkalı, Finlandiyalı mono ve dizogotik ikizler üzerinde yapılan bir çalışmada; genetik faktörler tüm meme kanserli olguların %27'sini açıklayabilmiştir (19). Macklin meme kanserli bir kişinin annesinde toplumdaki kadınlara göre meme kanseri gelişme olasılığının 2 kat fazla, kız kardeşinde ise 2.5 kat fazla olduğunu göstermiştir. Atipik hiperplazi saptanan kadınlarda meme kanseri oluşma riski %4.4 artarken atipik hiperplazi ile birlikte ailevi meme kanseri öyküsü olanlarda meme kanseri oluşma riski %9 artmıştır (14).

Meme kanserinin etyolojisinde; tek başına meme kanser riskini yükselten allelik varyantlı genler (yüksek penetranslı genler) ve tek başına kanser riskinde daha az etkili olan genler (düşük penetranslı genler) olmak üzere iki grup gen vardır. Yüksek penetranslı genlerin hastalığa neden olan allelik varyantları genel popülasyonda beklenenden azdır. Popülasyonda bu genotiplerle açıklanabilecek meme kanserini oranı düşük penetranslı genlerden çok daha azdır (21).

BRCA1 ("Breast cancer susceptibility gene"-meme kanserine yatkınlık geni), BRCA2 ve p53 (tümör baskılayıcı gen) yaygın olan yüksek penetranslı genler olup tümör supressör gen grubundadırlar. Bu genlerin erken dönemde görülen meme kanserlerinin famiyal grubunun aşağı yukarı yarısını kapsadığı tahmin edilmektedir. Bu genler hem hastalığın erken başlangıçlı olmasına, hem de multifokal tümörlere yatkınlığa neden olur (19). BRCA1 ve BRCA2 proteinleri genomik stabilitenin korunmasında, DNA zararlarına hücrel yanıtta, transkripsiyonel regülasyonda ve hücrel proliferasyonda rol oynar (22). BRCA1 geninin lokalizasyonu 17q12-21 şeklindedir ve otozomal dominant özellik gösterir. Bu gen kalıtsal meme kanserlerinin büyük bir kısmından (%42) sorumludur (19). Erken meme kanserlilerde BRCA1'de erken protein sonlanmasına neden olan bir mutasyon (1200 insA), bir yanlış anlam mutasyonu (2080A→G) ve gen dizi farklılaşması bulunmuştur. BRCA2 13q12-13 kromozom bölgesinde yer alır. BRCA2 genindeki mutasyonlar, kalıtsal kadın meme kanser vakalarının %32'sini ve erkeklerdeki meme kanserlerinin çoğunu açıklar. İki adet birinci derece akrabasında meme kanseri olanlarda erken protein sonlanmasına

neden olan (6880 insG) ve (3034 delAAAC) BRCA2 mutasyonu saptanmıştır. Bu genlerin kalıtsal meme kanseri ile ilişkisini belirlemek amacıyla yapılan popülasyon genetiği çalışmalarında değişik toplumlarda BRCA1 ve BRCA2 mutasyonlarının sıklıklarının önemli farklılıklar gösterdiği görülmüştür. Yapılan çalışmalarda BRCA1 mutasyon sıklığı İzlanda'da %9 iken Rusya'da %79 olarak bulunmuştur. Yine BRCA2 geni için de önemli farklılıklar saptanmıştır. Finlandiya'da %8, İzlanda'da %64 oranında mutasyon tespit edilmiştir (23). p53 tümör süpresör geni 17. kromozomun p12-13.3 gen bölgelerinde bulunan ve hücrede proliferasyonu düzenleyen 53 KD'luk bir fosfoprotein kodlayan genidir. Bu protein hücrenin S fazına girmesini pRb fosforilasyonunu engelleyerek meydana getirirler. p53 geni, insanlarda gözlenen birçok kalıtsal ve sporadik form kanserde aktif olarak rol oynamaktadır. Bu gendeki mutasyonlar kanserde en sık rastlanan genetik değişikliklerdir. Mutasyonlar hücre proliferasyonundaki en önemli baskılayıcı mekanizmayı ortadan kaldırır ve hücrede genetik bir instabilite oluştururlar. Bu olay tümör proliferasyonunun artmasına yol açar (24). Hücre bölünmesini durduran ve DNA hasarının düzeltilmesini sağlayan genlerin transkripsiyonunu aktive eden bir transkripsiyon faktörü olmasının yanı sıra p53 onarılmayan DNA hasarlı hücrelerde de apoptozu sağlayan bir role sahiptir (25).

Endojen faktörler veya yaşam şekli ile birlikte hareket eden yaygın genler (düşük penetranslı genler) henüz tam olarak tanımlanmamıştır. Düşük penetranslı genler üzerindeki bilgilerimiz meme kanseri üzerine etkisi olduğu düşünülen biyokimyasal ve fizyolojik yollara dayanmaktadır. Substrata bağlı olarak enzimler bu yolda ya inaktif yada aktif role sahip olabilirler. Yapılan çok geniş çaplı çalışmalarda, meme kanserine ilişkin düşük penetranslı genlerin CYP, GST, NAT ve COMT'u kodladığı saptanmıştır (19,26).

Meme kanserlerinin yaklaşık %30'unda meme epitelinde mutasyonlar sonucu protoonkogen overekspresyonu gözlenmektedir. Bunlar arasında en karakteristik olan HER-2 (Epidermal Büyüme Faktör Reseptörü) protoonkogeninin overekspresyonudur. HER-2 geni epidermal büyüme faktör reseptör ailesinin (HER-1, HER2, HER3, HER4) bir üyesidir (26). HER-2 geni 17q12-q21 kromozom bölgesinde lokalizedir. Yaklaşık 3 kb uzunluğundadır ve 27 ekson içermektedir. HER-2 185 kd ağırlığında tirozin kinaz aktivitesi gösteren bir reseptör kodlar. Aşırı HER-2 ekspresyonu hücre yüzeyinde homodimer (HER2-HER2) ve heterodimer (HER2-HER1) oluşumu artışına yol

açmaktadır (27). HER-2'nin oluşturduğu dimerler diğer aile üyelerinin birleşmesiyle ortaya çıkan dimerlerden daha aktiftir. Dimerler oluşuktan sonra; Ras/MAP Kinaz, PI-3K/Akt, JAK/STAT, PLC- γ , src ve strese bağılı aktiveşen kinaz gibi değişik sinyal yollarının uyarılabildiği gösterilmiştir. Östrojen reseptörü negatif tümörlerde HER-2 ekspresyonu daha sık görülürken reseptör pozitif tümörlerde ekspresyonun daha endergözlenmesi HER-2 ile östrojen reseptörü arasında endokrin ve parakrin sinyallerin etkileşimi ile birbirini baskılayan bir çevrimin bulunduğunu düşündürmektedir (28).

2.5.2. Endokrin Nedenler

2.5.2.1. Reprodüktif Faktörler

Son yapılan çalışmalar endojen hormon seviyesi ve meme kanserine yakalanma riski arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Bu bağlamda en azından östron, östrodiol, östriol, androstenedion, testosteron, dihidroepiandrosteron, progesteron, seks hormonu bağlayan globulin ve prolaktin serum düzeylerinin önemli faktörler olduğu düşünülmektedir. Yaşam boyunca kadınlar; menarşta, ilk gebelik döneminde, çok sayıdaki gebelik ve menopoz çağını içeren bazı dönemlerde endojen seks hormonlarına maruz kalmaktadır. Çok erken dönemde başlayan düzenli menstrual siklus, menarştan sonraki birkaç yıl çok yüksek düzeydeki östrojen seviyesi sonucu meme epitelinin sürekli östrojene maruz kalması ile kadınlarda meme kanserine yakalanma riski artmaktadır (19). Genel olarak menarşın her bir yıl gecikmesi ile meme kanseri riskinin %20 azaldığı kabul edilmektedir. Ancak, meme kanseri riski yönünden menstruasyonun başlama yaşı yanında ilk düzenli (önceden tahmin edilebilen) menstruasyon yaşı da önemlidir (14). Benzer şekilde, menopozun ileri yaşlara kadar sarkması ovulator siklusların sayısını arttırmakta ve bu da riskin artmasına neden olmaktadır (19). 45 yaşından önce menopoza giren kadınlarda meme kanseri riski, 55 yaşından sonra menopoza girenlerin yarısı kadardır. Menopoz yaşında her bir yıllık artış için meme kanserine yakalanma riski yaklaşık olarak %3 artmaktadır (14).

Yüksek parite ve erken doğum yaşı gibi faktörlerin her ikisi de yaşam boyunca meme kanser insidansının düşük kalmasında etkilidir (19). İlk çocuğunu 20 yaşından önce yapma, ilk çocuğunu 30 yaşından sonra yapmaya göre meme kanserine yakalanma riskini yarı yarıya düşürmektedir. Paritenin koruyucu etkisi ve mekanizması tam olarak anlaşılammakta ancak meme bezi hücrelerini erken dönemde tam olarak farklılaştırdığı

ve onları karsinojenik transformasyonlara daha az duyarlı hale getirdiği düşünülmektedir (29). Ayrıca sürekli emzirme de meme kanserine yakalanma riskini azaltmaktadır (30). Uzun süren laktasyonların toplam ovuluar dönem sayısını azaltarak koruyucu etki yapması beklenmektedir. Çin’de yapılan bir çalışmada toplam 5 yıllık bir emzirme süresinin meme kanseri riskini %30, 4-12 ay arasında emziren kadınlarda riski %11; iki yıl veya daha fazla emzirenlerde ise %25 oranında azalttığı gösterilmiştir (14). Östrojen reseptörü (ER) ve progesteron reseptörü (PR) pozitif olanlar negatif olanlarla karşılaştırıldığında yukarıda bahsedilen hormonla ilişkili faktörlerin bu kişilerde daha etkili olduğunu göstermiştir (31).

2.5.2.2. Hormonal Faktörler

Cinsiyet hormonları kadınlar arasında yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Bu da onların güvenilirliğini arttırmaktadır. Genellikle, hormonların zararlı etkilerini ayrı ayrı çalışmak mümkün değildir. Çünkü bunların birçoğu ya kombinasyon şeklindedir ya da aynı hastada arka arkaya kullanılmaktadır. Örneğin; oral kontraseptif veya hormon replasman tedavisi (HRT) (19). Epidemiyolojik olarak yapılan 54 çalışmanın sonuçları toplu olarak analiz edildiğinde; oral kontraseptif kullanımı süresi artışıyla meme kanserine yakalanma riskini arttırdığı saptanmıştır. Premenopoz ve uzun süreli oral kontraseptif kullanmış kadınlarda rölatif risk bir metaanalizde 1.5 bir değerinde ise 1.4 olarak bulunmuştur. Genellikle 35 yaş ve altındaki kadınlarda daha belirgin risk artışı gözlenmektedir. 45 yaş altındaki genç kadınlarda uzun süreli oral kontraseptif kullanımının etkisini araştıran yedi çalışmanın tümünde meme kanseri riskinin %3.1 arttığı hesaplanmıştır. Buna göre 10 yıl boyunca oral kontraseptif kullanan genç bir kadında hiç oral kontraseptif kullanmayan bir kadına göre meme kanseri oluşma riski %36 artmaktadır (14). Oral kontraseptiflerin kullanımının kesilmesinden sonraki 10 yıllık süreçte meme kanserine yakalanma riski üzerindeki etkisi ortadan kalkmaktadır.

Yapılan 51 çalışmanın analizi; HRT kullanan kadınlarda meme kanserine yakalanma riskinin azda olsa artığını göstermiştir (19). 5 yıl veya daha uzun süreli HRT kullanan kadınlarda riskte %35 oranında bir artış gözlenmiştir. Bu artış hormon kullanımına son vermeyi izleyen 5 yılda çoğunlukla ortadan kalkmaktadır. Geçmişte hormonlar özellikle östrojenlerden oluşmasına karşın günümüzde östrojen ve progesteron kombinasyonundan oluşmaktadır. Kombine kullanım, östrojenin tek başına

kullanımına göre riski daha da arttırmaktadır (32). Östrojen–progestin kullanımıyla ilgili (5 yıllık kullanım için) kontrollü olarak yapılan çalışmalarda meme kanserinde %26’lık bir artış saptanmıştır (33). Daha önce HRT kullanan kadınlarda kanserin hiç kullanmayanlara göre daha az agresif olma eğiliminde olduğu gösterilmiştir, ancak bununla çelişkili olan sonuçlarda vardır. HRT kullanıcılarında mortalite oranının düşük olduğu fakat uzun süreli kullanımlarda sağlanan yararın azaldığı gösterilmiştir (19). Böcek zehirleri (pestisid), boyalar, kirleticiler ve gıda koruyucularını içeren, östrojene benzer etkileri olan kseno-östrojenlerin meme kanserinin etyolojisinde önemli bir role sahip olabileceği gösterilmiştir. Örneğin; PCB (polychlorinate biphenyl)’nin katekol metabolizmasının karsinojenik östrojen metabolitlerini inhibe ederek östrojen metabolizmasını değiştirdiği gösterilmiştir (34).

2.5.3. Çevresel Faktörler

2.5.3.1. Sigara

Sigara ve meme kanserine yatkınlık üzerine yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Meme kanserinin gelişme riskinin sigara içiciliği ile ilişkisinin zayıf olduğu bilinmektedir. İstatistiksel olarak önemli etkileriyse; erken yaşlarda başlayanlarda, aşırı kullananlarda ve pasif içicilerde gözlenmiştir. Öte yandan tütün dumanında bulunan bazı ajanlar antiöstrojenik etkilere sahiptirler. Örneğin; nikotinin CYP19 enzimlerini inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu nedenle sigara kullananlarda menopoza kullananlara göre daha erken gerçekleşmektedir. Sigara katranı 3000’den fazla bileşik içermektedir. Bunların 30 tanesinin karsinojen olduğu bilinmektedir. Sigara dumanındaki en önemli karsinojenler; polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), aril aminler, heterosiklik aromatik aminler (HAA) ve N-nitrosaminlerdir. Sigara dumanı ile vücuda alınan PAH’lar ilk evrede: Sitokrom P4501A1 (CYP1A1), ikinci evrede ise Glutasyon S transferaz (GST) enzimleri tarafından detoksifiye edilerek suda çözünebilir türevlerine dönüştürülür. PAH’lar meme hücreleri için mutajenik etkiye sahiptirler ve lipofilik bileşikler memeyi de içeren adipoz dokularda depo edilir. Bu nedenle, PAH-DNA hasarı normal meme dokusunda meme kanserli dokuda belirlenmiştir. Aromatik aminler, N-asetiltransferaz (NAT) enzimi ile N asetilasyon katalizasyonu yoluyla detoksifiye olurlar. NAT yoluyla O-asetilasyonu bunların aktivasyonu ile sonuçlanır. Maternal PAH’e maruz kalma, düşük doğum ağırlığı ve erken doğum riskini

artırmaktadır. Annenin çevredeki tütün dumanından etkilenmesiyle neonatal üriner 8-OH-dG derişimi artarak, hücrenel oksidatif stres yoluyla kötü hamilelik sonucunun belirleyicisi olur (19).

2.5.3.2. Besinlerdeki Yağ Miktarı

İnsanların aldığı günlük besinler çok çeşitli doğal karsinojenler ve anti-karsinojenleri içerir. Bu bileşiklerin bir çoğu DNA hasarına neden olan oksijen radikalleri oluşumuna neden olur. Bu nedenle aşırı yağ kullanımı özellikle poliansature edilmiş yağ asitlerinin alınımı meme kanser riskini arttırmaktadır (19). Eritrositlerde, kolesterolle beslenme, malondialdehit (MDA) ve katalaz düzeylerini değiştirmemiş, SOD ise artmıştır. Torasik aorta dokusunda kolesterolle beslenen tavşanlarda katalaz değişmezken SOD aktivitesi artmıştır. Geniş bir grubun ele alınarak izlendiği bir çalışmada ise meme kanseri gelişen kadınların beslenme şekliyle aynı gruptaki meme kanseri gelişmeyen kadınların beslenme biçimi kıyaslandığında; yağ alımı ile meme kanseri arasında ilişki bulunamamıştır (14).

2.5.3.3. Vücut Ağırlığı

Obezite postmenopozal kadınlarda hem aşırı endojen östrojen seviyesi hem de meme kanserine yakalanma riski ile ilişkilidir. Obez olan postmenopozal kadınlarda sirküle olan östrojenin büyük çoğunluğu adipoz dokularda androjenin östrojene dönüşümüyle oluşur (35). Bu durum sitokrom P45019(CYP19)'la katalize olan in situ aromatzasyonun dokularda östradiol seviyesini, sirkülasyon yoluyla üretilen östrojene göre daha etkili bir şekilde arttırmasıyla gerçekleşmektedir. Buna zıt olan bir ilişki obez ve premenopozal meme kanserliler arasında gösterilmiştir. Bu kadınlarda anovulasyon seviyesinin yüksek olması daha düşük östrojen miktarıyla sonuçlanmaktadır. Fiziksel aktivitenin meme kanserine yakalanma riskini azalttığı belirlenmiştir. Fiziksel aktivitenin düzenli ovulator siklusu azaltan ve metillenmiş katekol östrojen miktarını arttıran bir mekanizmayı içerdiği gösterilmiştir (19).

2.5.3.4. Vitaminler

Antioksidanlar, hem direkt, hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, karsinojenlerin ve toksik radikallerin istenmeyen etkilerine karşı hücreleri koruyan

maddelerdir. Doğal antioksidan kaynağı olan vitamin ve sebzelerin kullanımının meme kanser riskini azalttığı gösterilmiştir. Askorbik asit, α -tokoferol ve karotenoidleri içeren antioksidan besinlerin yüksek tüketimi ile ters ilişkilendirilmesi kadar, meyve ve sebze alımı ile meme kanseri riski arasındaki ilişkiyi destekleyen nispeten tutarlı bilgiler de vardır(19). Bu besinlerin prooksidan hücre aktivitesi ve antioksidan savunmaları arasındaki dengeyi değiştirerek oksidatif stres ve ROS üretimini etkilediğine dair bir hipotez vardır. ROS'lar normal hücre solunumu, hücre stresi ve inflamasyonu sonucu üretilir. Toksik ajanlardan etkilenim veya patolojik süreçte savunma mekanizmasındaki yetersizlik ROS'un yoğun üretimine neden olduğundan oksidatif stres oluşabilir. Lipit peroksidasyon, protein değişikliği, membran hasarı ve mitokondrial hasar ve de kırılmalarına kadar varan DNA hasarı ile sonuçlanır (36). Karotenoidlerden A vitamini hücre farklılaşmasında regülatör olarak rol oynadığı için hücrelerin malign forma geçişini önleyebilir. Retinol in vitro koşullarda insan meme kanseri hücrelerinin büyümesini önlemiştir (14). Diyetle alınan α -tokoferol lipid peroksidasyona karşı korur ve steroidlerin neden olduğu karaciğer hücre hasarı ve tümör gelişimine karşı kullanılabilir. Ancak; Vitamin C ve E'nin artmış lipid peroksidasyon ve serbest radikallere karşı savunmada yetersiz kaldığı belirtilmiştir. Riboflavin, niasin suda eriyen vitaminlerdir. Flavin mononükleotid (FMN) gibi aktif koenzim formlarında ve flavin adenin dinükleotid (FAD) halinde hazır bulunan riboflavin, solunum zinciri yoluyla enerji üretiminde ve sayısız metabolik yolda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına katılır. Niasin ve onun kofaktörü olan nikotiamid adenin dinükleotid (NAD) ve nikotiamid adenin dinükleotid fosfat (NADP) doku solunumunu kapsayan oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarının bir çeşidi olarak önemlidir. Nikotinamidin koruyucusu etkisi bir serbest radikal artkçısı olmasından ve poli ADP-riboz sentetazın inhibisyonundaki etkisinden ya da hücredeki NAD düzeyinin yüksekliğinden kaynaklanabilir (37).

2.5.3.5. Alkol

Günlük olarak alınan bir ile beş bardak arasında alkolün meme kanserine yakalanma riskini arttırdığı gösterilmiştir. Alkolik kadınlarda yapılan çalışmada ise meme kanserine yakalanma riskinin yalnızca %15 oranında arttığı gösterilmiştir. Alkol kullanımının özellikle yetişkinlik çağının erken dönemlerinde zararlı olduğu

gösterilmiştir. Alkolün karsinojenik etkisinin mekanizması tam anlaşılmamıştır. Ancak alkol kullanan kadınlarda östrojen seviyesinin arttığını gösteren görüşler vardır. Bir diğer görüş; alkol ile indüklenen ROS'un oluşması ve adduct oluşumunun artmasını, bu nedenle detoksifikasyon enzimlerinin proteinekspresyonlarındaki azalmaları kapsamaktadır (19).

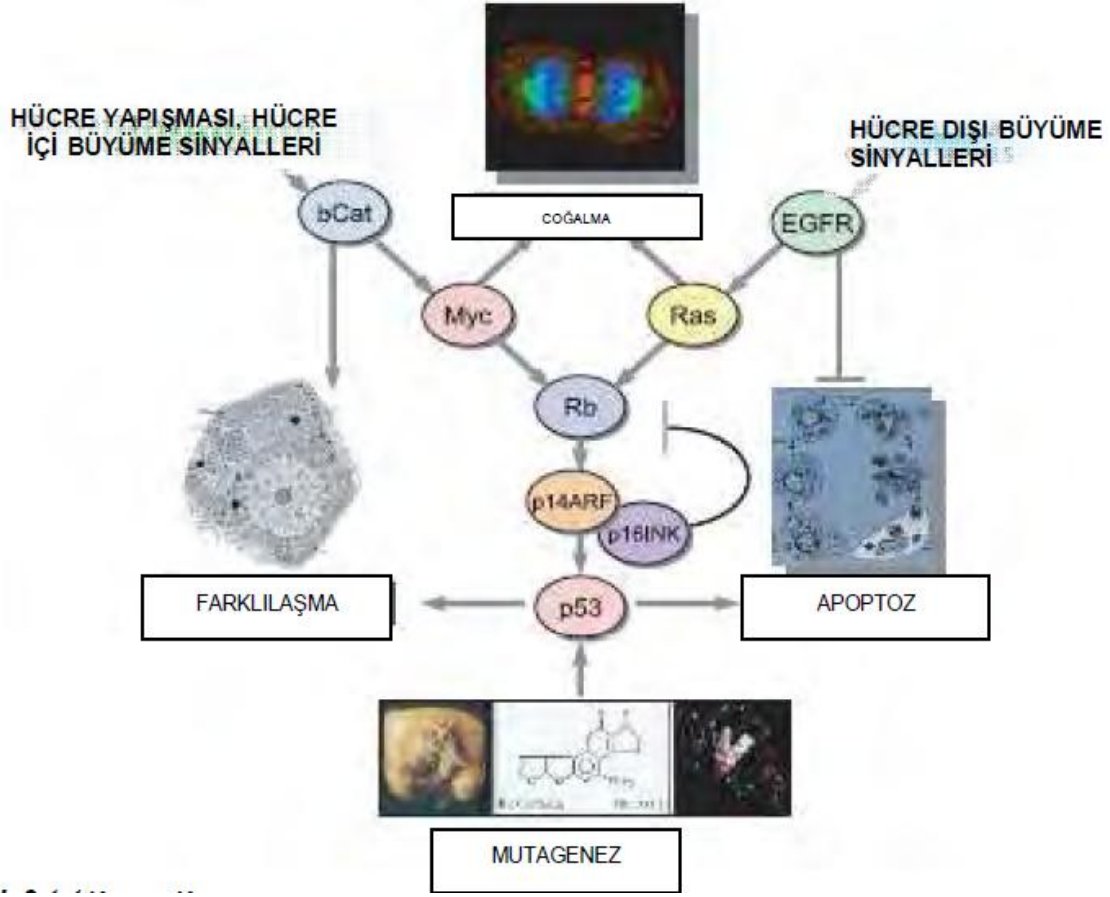
2.5.4. Diğer Risk Faktörleri

İyonizan radyasyonun kadın uçuş görevlilerinde, hemşirelerde ve kimyagerler arasında meme kanser riskini arttırdığı gösterilmiştir (19). Elektromagnetik alanların melatonin üretimini baskılayarak meme kanser riskini etkilediğine dair güçlü olmayan kanıtlar mevcuttur. Yüksek sosyo-ekonomik durum ve meme kanseri arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (38). Adolesan ve erişkin dönemde yapılan egzersizlerin meme kanseri riski üzerine etkisini araştıran bir çalışmada egzersizin 40 yaşın altındaki kadınlarda meme kanseri riskini azalttığı gösterilmiş ve haftada 4 saat veya daha fazla egzersiz yapan kadınlarda kanser riskinin hiç egzersiz yapmayanlara göre %60 daha az olduğu bildirilmiştir (14).

2.6. KANSER GENETİĞİ

Kanser, kontrolsüz hücre çoğalması olarak tanımlanabildiği ve kanser hücresinin başka biyolojik karakteristikleri de vardır. Bunlar arasında hücre kültürlerinde kontakt inhibisyonundan kaçabilme, bölünebilmek için dış uyaranlara (sinyallere) gereksinim göstermeme, çoğalmayı baskılayıcı sinyallere duyarsızlık, apoptozisten kaçabilme, anjiyogenez uyarabilme ve metastaz yapabilme sayılabilir (39).

Normal olan bir hücrenin geliştiği organizmanın ölümüne yol açabilecek bu olumsuz özellikleri sonradan nasıl edindiği, bir başka deyişle “onkogenezi” ya da “karsinogenezi” olarak adlandırılan bu süreçte hangi mekanizmaların rol oynadığı ancak yakın zamanlarda ve kısmen anlaşılabilmiştir. Buna göre onkogenezi, genetik değişiklikler; yani mutasyonlar üzerinden gelişen bir süreçtir. Son yıllarda epigenetik değişikliklerin de hücrenin malign karakter kazanmasında önemli rol oynadığı anlaşılmıştır (Şekil 1).



Sekil 1. Kanser gelişiminde birkaç genin nasıl işbirliği yaptığını göstermektedir

Üç resim bir hücrenin yaşamının 3 aşamasını göstermektedir: bölünme (üstte), farklılaşma (solda) ve programlanmış hücre ölümü (sağda). Önemli genler ve bunların işbirliği oklarla gösterilmiştir. Hücre yapışma sinyalleri betaKatenin yoluyla hücre bölünme sisteminin bileşenlerine aktarılır ve RB1 geninde toplanır (hücre çevriminin bir düzenleyicisi). Büyüme sinyalleri de genlerden geçerek aynı kontrol noktalarına yakınsar, örneğin tirozin kinaz aktivitesi (RTK) olan hücre yüzeyi reseptörleri ve bunların hücre dışı transmittörleri (RAS). Şeklin altında, hücre bölünmesi kontrolünün evrensel “fren”i gösterilmiştir: p53 proteini. p53’ü kodlayan gen olan TP53, çoğu kez çevresel mutajenlerin hedefi olur, örneğin DNA’da baz değişiklikleri oluşturan ve bir yiyecek bulaşanı olan aflatoksin. Bu mutasyon fren etkisini ortadan kaldırır ve kontrolsüz çoğalmaya neden olur (39).

2.6.1. Kanser Genetiğinde Temel Kavramlar

1. “Germline” mutasyon:

Gonadlardaki germ hücrelerinde (eşey hücresi; sperm ya da ovum) ortaya çıkan mutasyonlardır. Bu tür bir mutasyon taşıyan bireyler bunu çocuklarına geçirebilir. Mutasyonu alan çocuk yalnızca germ hücrelerinde değil, vücudunun tüm hücrelerinde o mutasyonu taşıyacaktır. Kalıtsal kanserlerden germline mutasyonlar sorumludur.

2. Somatik mutasyon:

Germ hücreleri haricindeki vücut hücrelerinde, yani somatik hücrelerde ortaya çıkan mutasyonlardır. Bu tür mutasyonlar sonraki kuşağa geçmez, biyolojik sonuçları yalnızca ortaya çıktıkları bireyi etkiler. Kalıtsal özellik göstermeyen, yani sporadik kanserlerin gelişiminde somatik mutasyonlar rol oynar.

3. Proto-onkogen:

Hücre çoğalmasında itici rol oynayan genlerdir. Hücre çoğalması normalde fizyolojik gereksinimlere göre ve kontrollü olarak yürütülmektedir. Protoonkogenlerin belli başlı işlevleri aşağıda gösterilmiştir (39,40).

1. Transkripsiyon faktörleri
2. Büyüme faktörü ve büyüme faktörü reseptörleri
3. Apoptozisin baskılanması
4. Kromatinin modifiye edilmesi
5. Hücre içi sinyal iletimi
6. Membranla ilişkili G proteinleri

Bir proto-onkogen, aktive edici bir mutasyona uğrayarak devamlı (konstitüsyonel) bir etkinlik durumu içine girebilir; böyle bir proto-onkogene de onkogen denir.

4. Tümör süpresör genleri:

Hücre çoğalmasında negatif yönde rol oynayan genlerdir. Proliferasyonu doğrudan baskılayan tümör süpresör genlere “bekçi” (gatekeeper) tipi genler denmektedir. Bekçiler hücre çevrimini (siklusunu) denetlerler, hücreyi apoptozise yönlendiren genler de bu gruptadır. Örneğin TP53 her iki özelliğe de sahip önemli bir tümör süpresör genidir. Tümör süpresör genlerinde ortaya çıkan işlev kaybettirici mutasyonlar da hücreye çoğalma yönünde bir üstünlük sağlar. Hücre çoğalmasını doğrudan baskılayan bekçi tipi tümör süpresör genlerden başka, dolaylı etki gösterenler de vardır. Bunlara da “bakıcı” (caretaker) tipi tümör süpresör genleri denir. Bakıcılar genomun bütünlüğünden sorumlu DNA tamir genleridir ve mutasyon oluşumunu engellerler. Bunların kendileri işlev kaybettirici bir mutasyona uğradığında, genom boyunca mutasyonlar ortaya çıkmaya başlar, yani genomik instabilite gelişir. Genomik instabilite bekçi tipi tümör süpresör genleri ve protoonkogenlerin mutasyona uğramasıyla sonuçlanabilir. Bazı germline tümör süpresör gen mutasyonları kalıtsal kanserlerle

ilişkilidir. Bunlar sporadik kanserlerde de mutasyona uğrayabilirler (39, 41) (Tablo 1).

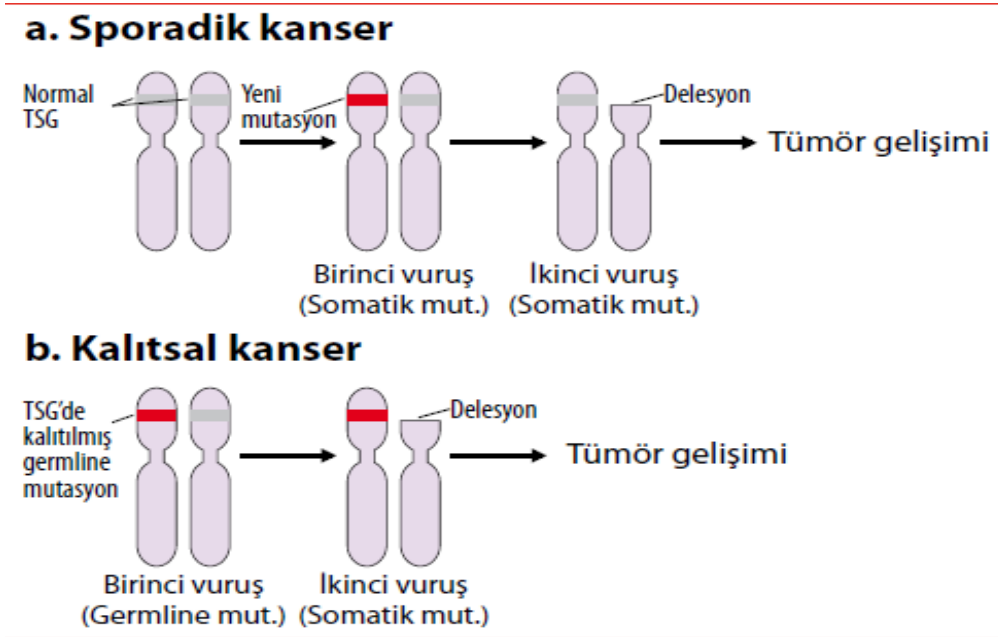
Tablo 1. Çeşitli ailesel kanserlerde ve sporadik tümörlerde inaktive olan tümör süpresör genleri

Tümör süpresör genin tipi	Gen	Kalıtsal kanser	Sporadik kanser
Hücre bölünmesi kontrolü (Bekçi tipi TSG)	RB1	Retinoblastoma	Bir çok sporadik kanser
	VHL	Von Hippel Lindau hastalığı	Böbrek tümörü, merkezi sinir sistemi hemanjiyoblastoması
	NF1	Nörofibromatozis tip 1	Malin periferik sinir kılıfı tümörü
	NF2	Nörofibromatozis tip 2	Meningiom
	APC	Familyal adenomatöz polipozis	Kolorektal kanser
DNA tamir genleri (Bakıcı tipi TSG)	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	Hereditör non-polipozis kolon kanseri	Kolon, mide, endometriyum kanseri
	BRCA1, BRCA2	Hereditör meme/over kanseri	Over ve meme kanseri
Apoptozis genleri	TP53	Li-Fraumeni sendromu	Bir çok sporadik kanser
	P16	Ailesel melanoma	Bir çok sporadik kanser

5. “İki vuruş” hipotezi ve retinoblastoma:

“İki vuruş hipotezi”, Alfred Knudson’ın ailesel ve sporadik retinoblastomaya ait epidemiyolojik verilere dayanarak ortaya attığı bir kavramdır. Retinoblastoma, çocukluk çağına özgü son derece nadir bir göz tümörüdür. Çocuklardaki insidansı 1/13500-25000 arasında değişmektedir. Bütün retinoblastoma olgularının yaklaşık %40’ının germline mutasyonla ortaya çıktığı kestirilmektedir. Bunlar kalıtsal olguları oluşturmaktadır ve kalıtım şekli otozomal dominanttır. Kalıtsal olgular, kromozom 13q’da bulunan RB1geninde mutasyon taşımaktadırlar. Geriye kalan %60 olgu ise sporadiktir. Ailesel olgularda tümör sporadiklere göre daha erken yaşta ortaya çıkmakta ve bilateral (yada çok odaklı) olabilmektedir. Retinoblastomaya dair yapılan çalışmaların kanser genetiğinin tarihçesinde çok önemli bir yeri vardır. Alfred Knudson tarafından 1971 yılında ileri sürülen hipoteze göre, retinoblastoma gelişebilmesi için iki ayrı mutasyon gerekmektedir. İnsan gibi diploid organizmalarda (X ve Y kromozomları üzerindeki genler bir yana bırakılacak olursa) her genin biri maternal (anne) diğeri de paternal (baba) kökenli iki kopyası (allel) bulunmaktadır. Sporadik retinoblastomada aynı retina hücresinde RB1 geninin iki kopyasının arka arkaya somatik mutasyona uğraması gereklidir. Ailesel olanda ise birey bu mutasyonlardan birini germline yoluyla

bir önceki kuşaktan almıştır. Dolayısıyla vücudunun bütün hücrelerinde (göz de dahil olmak üzere bütün somatik dokular ve kendi germline hücrelerinde) RB1 gen mutasyonunu doğuştan heterozigot durumda taşımaktadır. Ancak tümör gelişimi için bu yeterli olmayıp sağlam olan ikinci kopyanın da somatik bir mutasyonla etkisizleştirilmesi gereklidir. Görüldüğü gibi retinoblastomanın her iki tipinde de kritik “iki vuruş” gereklidir. Aradaki fark, ailesel olanda gerekli vuruşlardan birinin birey dünyaya geldiği sırada vücudunun bütün hücrelerinde zaten gerçekleşmiş olması ve herhangi bir retina hücresinde ikinci bir vuruşun gerçekleşmesiyle tümörün yaşamın daha erken döneminde gelişebilmesidir (Şekil 2). Bu ikinci olay, nadir olmayarak birden fazla hücrede ortaya çıkabildiğinden tümörler iki ve/veya çok odaklı olabilmektedir(39,42).



Şekil 2.Knudson'ın iki vuruş hipotezi

Hem sporadik, hem de kalıtsal kanserde, tumor supresor geninin her iki kopyası “iki vuruş”la inaktive olmaktadır. Kalıtsal olanın farkı, vuruşlardan ilkinin doğuştan itibaren (ve bütün hücrelerde) zaten mevcut olmasıdır. Tümör gelişimi için diğer kopyanın kaybı yeterli olacaktır. Sporadik olanda ise aynı hücrede doğumdan sonra arka arkaya iki vuruş olması gerekmektedir.

6. Heterozigote kaybı (*loss of heterozygosity; LOH*):

Ailesel retinoblastomada, normal dokularında heterozigot olan (yani RB1 geninin hem mutant hem de normal allelini taşıyan) bireyler, tümör dokusunda yalnızca mutant RB1 allelini taşımakta ve normal allel saptanamamaktadır. Bunun nedeni, normal RB1

allelinin yer aldığı 13q14 kromozomal bölgesinin onkogenез sırasında interstisyel delesyona uğramasıdır. Bu durumda, tümör dokusunda RB1 gen lokusunda moleküler yöntemlerle heterozigote kaybı saptanmaktadır. İnterstisyel delesyon dışında diğer önemli ikinci vuruş mekanizmaları mitotik rekombinasyon ve mitotik nondisjunction'a bağı kromozomal delesyondur. İkinci vuruşun nokta mutasyonu ya da epigenetik sessizleştirme ile olduğu durumlarda ise LOH saptanmaz. Sporadik retinoblastomada da tümörde RB1 gen lokusunda LOH saptanmaktadır. Retinoblastoma ile ilişkili yukarıdaki gözlemlerin, başka kanserler için de geçerli olduğu görülmüştür. Çeşitli sporadik tümörlerde, tümör süpresör genlerin bulunduğu kromozomal bölgelerde LOH saptanmaktadır. Bu da “iki vuruş” mekanizmasının birçok tümörün gelişiminde önemli rol oynadığını düşündürmektedir. Örneğınmeme, kolon ve başka birçok kanserde TP53 tümör süpresör geninin bulunduğu kromozom 17p bölgesinde LOH saptanmaktadır (41) (Tablo 2).

Tablo 2. Çeşitli kanserlerde LOH saptanan kromozomal bölgeler ve içerdikler tümör süpresör genler

LOH	TSG	İlişkili Kanser
17p	<i>p53</i>	Kolon, meme kanseri
10q	<i>PTEN</i>	Prostat kanseri
3p	<i>VHL</i>	Merkezi sinir sistemi hemanjiyoblastomu
5q	<i>APC</i>	Kolon kanseri
13q	<i>RB1</i>	Osteosarkom
18q	<i>DCC</i>	Kolon kanseri

LOH: heterozigote kaybı; TSG: tümör süpresör gen

7. Çok aşamalı bir süreç olarak onkogenез:

Hücreyi kanserleşmeye götüren yolda özel bazı genlerin mutasyona uğraması gereklidir. Bu genlerin işlevleri açısından hemen daima ya bir proto-onkogen ya da bir tümör süpresör geni olduğu anlaşılmıştır. Özellikle kolon kanserinde yapılan araştırmalar onkogenез için tek bir “genetik olay”ın yeterli olmadığını, tümör süpresör genler ve proto-onkogenlerde bir dizi mutasyonun oluşması gerektiğini göstermiştir. Yani onkogenез, genetik açıdan çok aşamalı (multistep) bir süreçtir (Şekil 3). Bu süreç

sirasında oluşan mutasyonlar kendiliğinden ya da mutajenik etkilere (örneğin radyasyon) bağlı olarak gelişebilir. O nedenle, yukarıda anlatılan “iki vuruş hipotezi” tarihsel önemine rağmen bu daha yeni bilgiler ışığında onkogenezi anlatmakta yetersiz kalmaktadır (39,43).



Şekil 3.Kolon kanserinde moleküler düzeyde çok aşamalı gidiş

Normal bir kolon epitel hücresinin karsinom özelliğini kazanabilmesi ve metastaz yapabilme yeteneğini kazanması bir dizi mutasyona bağlıdır. Normalde bu süreç uzun yıllar alabilmektedir. Ancak DNA tamir genlerindeki mutasyona bağlı olarak genomik instabilite gelişirse söz konusu olaylar dizisi hızlanabilir.

2.6.2. Kanserlerde Onkogen Aktivasyonu

Başlıca onkogen aktivasyon mekanizmaları nokta mutasyonu, kromozomal yeniden düzenlenmeler, gen amplifikasyonu ya da aşırı gen ekspresyonudur. Aşağıda sık görülen tipik bazı örnekler ele alınacaktır.

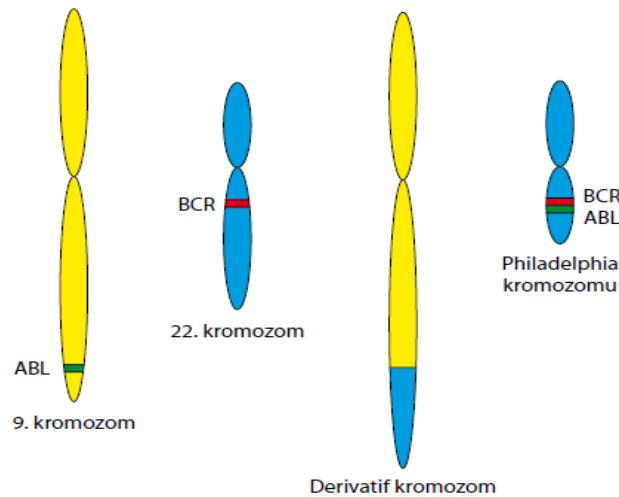
2.6.3. Nokta Mutasyonları

RAS proto-onkogeni hücre proliferasyonunda rol oynayan ve guanozin trifosfataz aktiviteli p21 isimli bir protein kodlamaktadır. RAS proto-onkogeninde belirli kodonlarda ortaya çıkan mutasyonlar proteinin devamlı aktif durumda kalmasına yol açarlar. Yani hücreyi proliferasyon yönünde uyaran sinyal yolu devamlı “açık” kalmaktadır. RAS mutasyonları kolon, akciğer ve pankreas; NRAS mutasyonları ise

akut miyeloblastik lösemi ve miyelodisplastik sendromda siktir (39,44).

2.6.4. Kromozomal Yeniden Düzenlenmeler

Dengeli translokasyonlar, bazen bir proto-onkogenin, başka bir kromozoma taşınmasına ve aşırı ekspresyonuna yol açmaktadır. Örneğin Burkitt lenfomasında görülen t(8;14) translokasyonunda, kromozom 8q24'te bulunan MYC proto-onkogeni kromozom 14q32'de bulunan immün globülin ağır zincir loküsünün distaline yerleşmektedir. MYC bu yeni konumunda, transkripsiyonu arttırıcı bazı dizilerin etkisi altında kalmakta ve ekspresyonu artmaktadır. Kendisi de bir transkripsiyon faktörü olan MYC, hücre proliferasyonunda rol oynayan bazı genlerin ekspresyonu üzerinde etkilidir. Bütün bu olayların net etkisi hücrede aşırı çoğalma eğiliminin belirmesidir. Onkogen aktivasyonu ile sonuçlanan kromozomal translokasyonlar akut ve kronik lösemilerde özellikle siktir. Örneğin kronik miyelösiter lösemide (KML), kromozom 9 ve 22 arasında gelişen ve Philadelphia kromozomu (Ph) oluşumu ile sonuçlanan t(9;22) translokasyonunda, tirozin kinaz aktivitesi olan ABL geni, kromozom 22q'da bulunan ve işlevi bilinmeyen "breakpoint cluster region" (BCR) geniyle birleşmektedir. Oluşan kimerik genden tirozin kinaz aktivitesi yüksek bir füzyon proteini sentezlenmektedir. KML gelişiminde esas rolü bu artmış protein kinaz aktivitesi oynamaktadır (39,45,46) (Şekil 4).



Şekil 4. Dokuz ve 22. kromozomlar arasında gelişen karşılıklı translokasyon sonucunda Philadelphia kromozomu oluşumu

Sonucta dokuzuncu kromozomdaki ABL geni 22. kromozomdaki BCR geninin komşuluğuna gelmekte ve yeni bir füzyon geni ortaya çıkmaktadır.

2.6.5. Gen Amplifikasyonu

Onkogenez süreci içinde bazen bir DNA segmenti çoğalmakta (amplifikasyon) ve o segment içinde yer alan bir proto-onkogenin bazen yüzlerce yeni kopyası genoma eklenmektedir. MYC, siklin D1, EGFR ve RAS gibi protoonkogenleri küçük hücreli akciğer kanseri, meme, özofagus, serviks ve over kanserinde amplifiye olmaktadır. Meme kanserinde bir epidermal büyüme faktörü reseptörü olan ERBB2 (diğer adıyla HER2/neu) geni amplifiye olmakta ve kötü prognostik gösterge olarak değerlendirilmektedir. Bu amplifiye olmuş segmenti, FISH tekniği ile ya da kodladığı proteini immünohistokimyasal boyama ile göstermek mümkün olabilir. Aşırı HER2/Neu ekspresyonu gösterilen meme kanseri olgularında bu onkogene karşı geliştirilmiş trastuzumab isimli monoklonal antikora olumlu sonuç alınmaktadır (39,47,48).

2.6.6. Tümörlerde “Onkogen Bağımlılığı”

Tümörlerde bir şekilde onkogen aktivasyonunun ortaya çıkması “onkogen bağımlılığı” kavramının ortaya atılmasına neden olmuştur. Buna göre, onkogen aktivasyonu, hücrenin “malign” halinin idame ettirilmesinde kritik önem taşımaktadır. Yani tümörde bir çeşit onkogen bağımlılığı söz konusudur. Örneğin, MYC onkogenini eksprese eden transgenik farelerde T hücreli veya akut miyeloid lösemi gelişmekte, onkogen inaktive edildiğinde ise lösemik hücrelerde proliferasyon duraklamakta, diferansiye olmakta ve apoptozise uğramaktadırlar. Bcr-abl füzyon genini eksprese eden bir başka transgenik fare modelinde lösemi geliştiği, buna karşılık ekspresyon durdurulduğunda (switch-off) hastalığın ileri evresinde olan farelerde bile tümör hücrelerinin hızla apoptozise uğradığı ve farelerin hayatta kaldığı görülmüştür. Bunlar ve benzeri gözlemler, belirli kanser tiplerinin kendilerine özgü bir zayıf noktaları olduğunu göstermiş ve bu zayıf noktaya yönelik “hedefli” tedavilerin geliştirilmesini tetiklemiştir. Bu tedavilerden bazıları rutin kullanıma girmiş olup diğerleri araştırma aşamasındadır. Örneğin kronik miyelösiter lösemide kullanılan imatinab, Bcr-abl füzyon proteinini hedeflemekte ve hastalarda tam hematolojik remisyon sağlamaktadır. Bu molekül, tirozin kinaz etkili füzyon proteininin substratı ile etkileştiği “cep” bölümüne yerleşerek etkisini göstermektedir (39,49,50).

2.6.7. Telomerler ve Telomeraz Onkogeni

Kromozomların en uç bölümünü oluşturan bölgeler telomer olarak adlandırılmaktadır. Telomerler, insanda 6 nükleotitten oluşan TTAGGG dizilerinin binlerce kopyasından meydana gelmektedir. DNA replikasyonu insanda bidireksiyonel ve yalnızca 5'-3' yönünde yürüdüğünden, her bölünme sırasında belirli bir miktar telomer kısalması kaçınılmazdır. Diğer yandan normal hücre kültürlerinde belirli bir pasaj sayısından sonra bölünme durmakta ve hücreler replikatif yaşlılık evresine girmektedir. "Hayflick limiti" olarak da adlandırılan bu olgunun telomerlerdeki kısalmayla paralellik gösterdiği saptanmıştır. Telomeraz enzimi bu kısalmayı önlemektedir. Bu enzim katalitik bir protein (hTERT) ve kısa bir RNA molekülünden (hTER) oluşmaktadır. hTERT, RNA-bağımlı bir ters transkriptaz olup hTER'den DNA sentezlemekte ve bu şekilde telomerik kısalma önlenmektedir. Telomeraz (tahmin edileceği şekilde) yalnızca sürekli proliferasyon halinde olması gereken lenfosit, bazal keratinosit, intestinal kript hücreleri gibi hücrelerde aktiftir. Normalde telomeraz aktivitesi olmayan hücrelerden gelişen tümörlerde ise kontrolsüz çoğalmaya rağmen telomerik dizilerin kısalmadığı gözlenmektedir, bu tümörlerde telomeraz aktivitesi saptanmıştır. O halde telomeraz bu tümörlerde bir tür onkogen etkisi göstermektedir. Bu bilgilerin kliniğe yansması olarak, telomeraz aktivitesini baskılamak üzere immünoterapi, gen tedavisi ve oligonükleotit esaslı tedaviler deneme aşamasındadır. Doku örneklerinde telomeraz aktivitesinin saptanması ve immünohistokimyasal boyama ile hTERT varlığının gösterilmesinden kanser tanısı ve prognoz kestiriminde yararlanılabileceği de belirtilmiştir (39,51).

2.6.8. Protein kodlamayan proto-onkogenler ve tümör süpresör genleri: mikroRNA'lar (miRNA'lar)

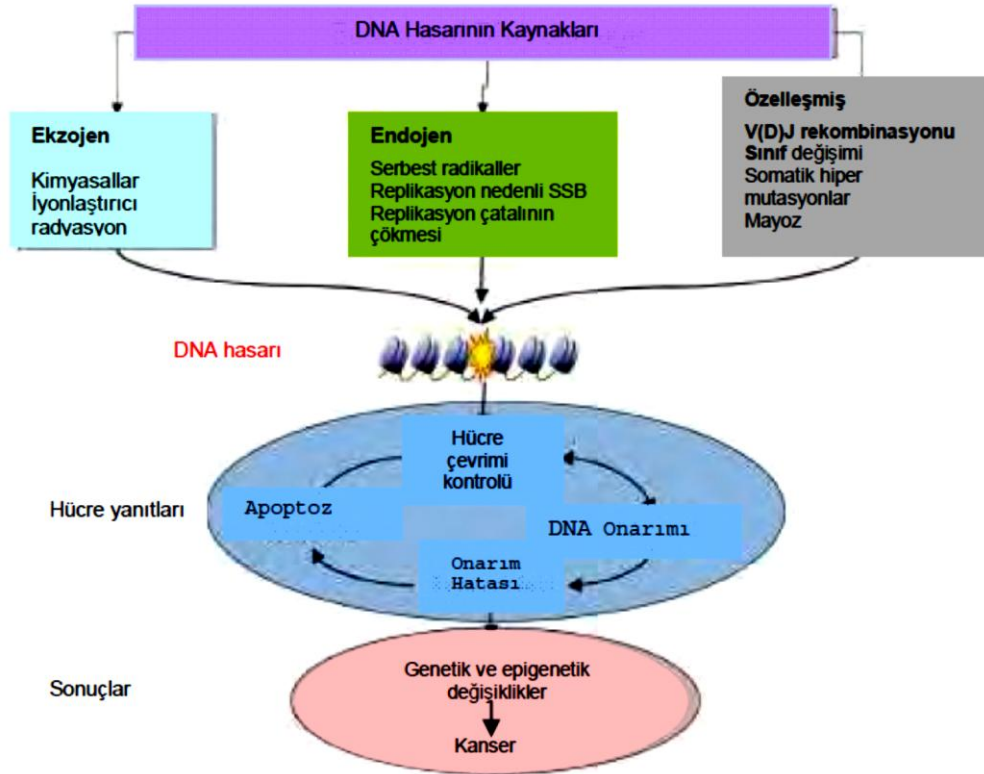
İnsan genomunda bazı DNA dizilerinin RNA'ya transkripsiyonu yapılmakta, ancak bunlardan protein translasyonu yapılmamaktadır. Kodlayıcı olmayan bu RNA'lardan bazılarının gen ekspresyonu regülasyonunda rol oynadığı anlaşılmıştır. Yirmi iki nükleotitlik kısa dizilerden oluştukları için mikroRNA (miRNA) olarak adlandırılan bu moleküllerin çeşitli tümörlerde aşırı eksprese oldukları ya da ekspresyonlarının azaldığı saptanmıştır. Örneğin, kronik lenfositik lösemide sıklıkla delesyona uğrayan 13q14 bölgesinde miR-15a ve miR-16a genlerinin bulunduğu ve olguların yaklaşık üçte ikisinde bu iki miRNA ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur. Daha yakınlarda yapılan

bir çalışma her iki miRNA molekülünün antiapoptotik etkili bir gen olan BCL2 ekspresyonunu transkripsiyon sonrası aşamada baskıladığını göstermiştir. Bu gözlem miR15a ve miR16a'nın tümör süpresör işlevleri olduğunu düşündürmektedir. Diğer bazı miRNA'ların ise aşırı ekspresyonu bildirilmiştir. Örneğin kromozom 13q31'de bulunan mir-17-92 gen grubu ekspresyonunun akciğer kanseri ve çeşitli tipte lenfomalarda arttığı saptanmıştır. Bu moleküllerin hedefleri arasında PTEN ve RB2 tümör süpresör genlerinin bulunduğu tahmin edilmektedir. Bu da, mir-17-92 gen grubunun onkogenik etkili olduğunu göstermektedir. Farklı kanser türlerinin kendilerine özgü miRNA ekspresyon profilleri olduğu görülmektedir. Genel olarak tümör dokusunda miRNA ekspresyonunun azaldığı ve ekspresyon profilinin tümörün tipini ve farklılaşmasını ile ilişki gösterdiği bulunmuştur. Tümör dokusunda miRNA'lar mikrodizgi (microarray) ya da gerçek zamanlı PCR gibi yöntemlerle saptanabilmektedir. Kronik lenfositik lösemi, meme, kolorektal, over, karaciğer, akciğer, pankreas ve prostat kanseri gibi çeşitli malignitelerde belirli bazı miRNA'ların hastalığın evre, invaziflik, metastatik potansiyel, histolojik alt tip ve sağkalım gibi çeşitli klinik karakteristikleri ile ilişki gösterdiği anlaşılmıştır. Yani belirli miRNA ekspresyon profillerinin bir çeşit "tümör imzası" işlevi gördüğü ve bunlardan gerek tanıda gerekse prognoz kestiriminde kullanılabilir biyogöstergeler olarak yararlanılabileceği belirtilmiştir. miRNA'ların kanser gelişimindeki çok yönlü rolleri yeni tedavilerin geliştirilmesi açısından da – bugün için deneysel de olsa- olanaklar sunmaktadır (39,52,53).

2.6.9. Kanser ve Epigenetik Değişiklikler

Epigenetik, DNA dizisinde değişiklik olmadan gen ekspresyonunun değişikliğe uğramasını ifade eden bir terimdir. Onkogenez sırasında DNA'da yalnızca nükleotit diziliminde değişiklikler olmadığı (nokta mutasyonu, delesyon ve insersiyonlar gibi) DNA düzeyinde bazı kimyasal modifikasyonların da gen ekspresyonunu etkilediği anlaşılmıştır. Özellikle DNA metilasyonu ve kromatinin yapısında bulunan histon proteinlerinin modifikasyonu malin transformasyonda önemli rol oynamaktadır. Metilasyonda, bir guaninle komşu olan sitozin'in (CpG dinükleotidi) 5' pozisyonunda bulunan karbon atomuna bir metil grubu eklenmektedir. CpG dinükleotitleri birçok genin promotör bölgesinde sık olup "CpG adaları" halinde bulunurlar. Genin aktif kalabilmesi için bunların metillenmemiş (demetile) durumda korunması gereklidir.

Genin normal olarak inaktif olması gereken hücrelerde ve kadındaki inaktif X kromozomunda ise CpG adaları metile durumdadır. Bir başka deyişle metilasyon gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Tarihsel olarak kanserlerde saptanan ilk epigenetik anomali hipometilasyondur. Kolon kanserinde, tümör DNA'sında normal mukozaya kıyasla yaygın hipometilasyon olduğu saptanmıştır. Kolon, karaciğer, prostat ve serviks kanserinde de hipometilasyon saptanması bunun kanser gelişiminde yaygın bir mekanizma olduğunu düşündürmektedir. Sonraki yıllarda hipometilasyonun anormal gen aktivasyonuna ve genomik instabiliteye yol açtığı gösterilmiştir. Diğer yandan RB1, MLH1, VHL ve BRCA1 gibi tümör süpresör gen promotörlerinin hatalı (aberran) olarak metile olması da kanserlerde sık görülmektedir. Kolon ve meme kanserlerinde yapılan bir çalışmada çeşitli tümör süpresör genlerinin promotör bölgelerinin hipermetile olduğu bulunmuştur. Hatta kalıtsal kanserlerde metilasyon "ikinci vuruş" işlevi görmektedir. Bu bulguların kanser tedavisi açısından önemi vardır. Çünkü 5-aza-2'-deoksistidin gibi ajanların hücre kültürlerinde metilasyon ile sessizleştirilmiş genleri demetile ederek genin yeniden aktive olmasını sağladığı gösterilmiştir (39,54) (Şekil 5).



Şekil 5. DNA hasarının nedenleri, hüresel yanıtlar ve sonuçları

2.7. HÜCRE SIKLUSU VE KANSER

Organizma/organ/doku gelişimi, hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını içerdiği gibi hücre ölümlerini de sağlar. Hasarlı dokuların onarımı somatik hücrelerin ve destek dokunun çoğalması ile gerçekleşmektedir (55,56). Hücre büyümesi, farklılaşması ve çoğalmasında rolü olan proto-onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar tümör gelişimine, tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre siklusunun inhibisyonunu engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olur (55,57).

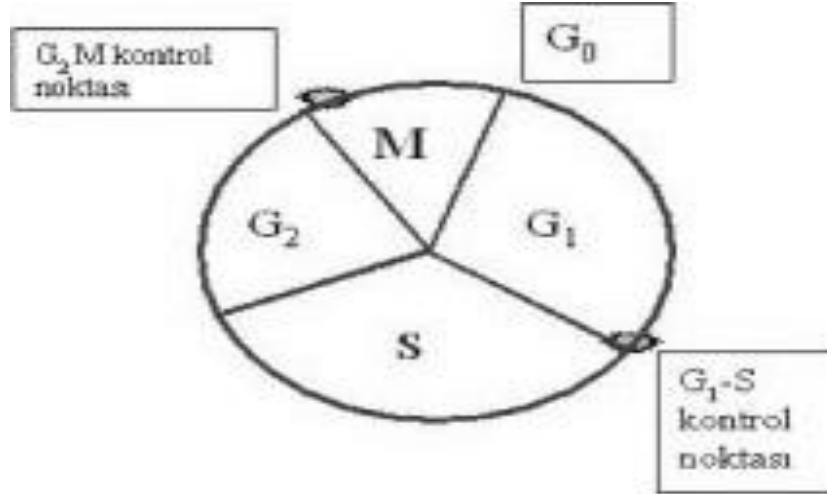
Homeostasis; hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptozis (programlı hücre ölümü) ile sürdürülmektedir. Hücre büyümesi ve ölüm arasındaki dengenin bozulması hiperplazi veya neoplaziye neden olur. Pozitif veya negatif uyarılar genetik lezyona yatkın hücrelerde, malign çoğalmaya neden olabilir. Malign gelişimi en aza indirmeye yardımcı mekanizmalardan birisi nekrozdur. Nekroz (kontrolsüz hücre ölümü) hücre şişmesi ve hızlı dejenerasyon olarak tanımlanır. Apoptozis, nekroza farklı olarak fizyolojik koşullarda meydana gelen ve doku homeostazisini sağlayan ölüm seklidir (55).

Programlı hücre ölümü apoptozisin normal hücre döngüsünde ve fizyolojik süreçlerde rolü vardır. Apoptotik hücrelerde hücre büzülmesi, kromatinin kondanse olması, sitoplazmik tomurcuklar ve apoptotik cisimciklerin oluşumu gibi morfolojik değişimler meydana gelir. Makrofajlar apoptotik hücre ve cisimciklerini fagosite eder. Doku zedelenmesinde ilk etmen reaktif oksijen türevleridir. Reaktif oksijen türevlerinin hedefleri plazma zarında ve diğer hücre kompartmanlarında bulunan proteinler, lipidler, karbohidratlar ve nükleik asitlerdir. Son yıllarda nekroza da programlanmış olabileceği ve organizma homeostasis mekanizmalarının bir parçası olduğu önünde görüş oluşmakla birlikte daha yaygın olarak nekroz indüklenmesi olası tedavi mekanizması olarak değerlendirilmektedir. Nekroza ölen hücrelerden *HMGB1* (High mobility group protein B1) ve *HDGF* (hepatoma derived growth factor) gibi moleküllerin salınımının immün cevabı uyardığı veya yara onarımını aktive ettiği düşünülmektedir. Apoptozis, normal hücre ölümünün yanı sıra mutant hücre çoğalmasını önleyen önemli bir yoldur. Hücre siklusu ve apoptozisde çok sayıda protein ikili rol oynar. Çevresel faktörlerle meydana gelen DNA hasarı hücre siklus kontrol mekanizmalarının bozulmasına neden olur. Pek çok kanser tipinde hücre siklus kontrol noktalarında mutasyonlar belirlenmiştir. Büyümenin durdurulması (growth arrest), DNA onarımı ve apoptozis'in

engellenmesi kanser gelişiminde kritik yolaklardır (55). Tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlar hasarlı hücrelerin hücre sikluslarının ilerlemesine ve tümör gelişimine neden olur. Genomun gardiyanı olarak da tanımlanan p53 proteini karmaşık etkinliklere sahip ve hücre siklusunu baskılayan bir proteindir. P53 hücre döngüsünü düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Birçok organizmada kanserin baskılanmasında rolü olan çok önemli bir proteindir. p53 proteini hücre büyümesinin durdurulması, programlanmış hücre ölümü, hücre farklılaşması ve DNA tamir mekanizmasının baslatılmasında da rol alır. p53, mutant hücre çoğalmasına karşı genomun korunmasında önemli rol oynar (55,57).

2.7.1. Normal Hücrelerde Hücre Siklusu

Sürekli bölünen hücrelerde mitozdan sonra siklus G_1 -S- G_2 (interfaz) ve M (mitoz) şeklinde tekrarlanır. Bu süreçte hücre uyarımı ve büyüme meydana gelmekte veya bölünme sinyali almadıkları sürece istirahat fazı G_0 da durmaktadırlar (55,56). G_1 , S, G_2 fazları (Interfaz) hücre siklusunun %90'nını kapsar ve 16-24 saat sürer. Mitoz bölünme ise 1-2 saat sürmektedir. Hücre büyümesi G_1 fazında kısıtlayıcı nokta (R point) tarafından koordine edilir. Kısıtlayıcı noktada hücre duracak veya hücre siklusunu tamamlayacaktır. G_1 fazında hücreler kendi çevrelerini kontrol eder, sinyalleri alır ve büyümeyi indükler. Bu fazda DNA sentezi (replikasyonu) için hazırlık yapılır. RNA ve protein sentezi olur. S fazında ise DNA sentezlendikten sonra, G_2 fazında hücre büyümeye devam eder aynı zamanda RNA sentezi, protein sentezi gerçekleşir ve hücre mitozla hazırlanır. Mitoz; profaz, metafaz, anafaz ve telofazdan oluşmaktadır. Telofazda sitoplazmik bölünme tamamlanır ve aynı genetik materyalli iki yeni hücre meydana gelir (Şekil 6) (55,57,).



Sekil 6.Hücre siklusu ve kontrol noktaları

Ökaryot hücre siklusu mitoz, G, S ve G fazlarından oluşur. G 'da dinlenme aşamasında olan, bölünmeyen hücreler bulunur.G fazı büyüme ve DNA sentezine hazırlık, S fazı DNA sentezi, G fazı büyüme ve mitoze hazırlık, mitoz bölünme (profaz, metafazı anafaz ve telofaz) gerçekleşir.

Hücre siklusunda bir faz tamamlanmadan sonraki faza geçilirse genetik materyal tam ve doğru kopyalanmadığı için hücrede hasar meydana gelebilir. Hücre siklusunda G₁ -S geçişinde, G₂ -M geçişinde ve metafaz-anafaz geçişinde kontrol noktaları vardır. Bu kontrol noktalarında hücrenin sıklusa devam edip etmeyeceği kararı verilir. Radyasyon veya toksinle muamele edilen hücrelerde DNA'da meydana gelen hasara göre hücre siklusu kontrol noktaları G₁ den S fazına veya G₂ 'den mitoze geçişi engeller. DNA'da meydana gelen hasar DNA sentezini de inhibe edebilir. DNA'sı replike olmamış hücrelerde mitoze giriş kinaz komplekslerinin inaktivasyonu ile engellenir (55,58). Hücre siklusunda iki tip gen grubunun rolü vardır: Onkogenler (*Her 2, lneu, ras, c myc vb*) ve tümör baskılayıcı genler p53 ve Rb (Retinoblastoma geni) (55). Onkogenler, kanser gelişimini doğrudan ve dolaylı olarak etkileyen gen grubudur. Tümör baskılayıcı genler ise kanser gelişimini baskılar. p53 geni işlevini kaybederse hücre büyümesinin kontrolü ortadan kalkar ve DNA tamiri olmadan hücre siklusu kontrolsüz devam eder. Normal hücrelerde DNA hasarı olduğunda, p53 genomik kararlılığı sağlar ve hücre siklusunu G₁ 'de inhibe eder ve hücreye tamir için zaman kazandırır. Hasar tamir edilemiyorsa hücre apoptozise gider (55,58,59). Hu W ve ark. Farelerde p53 ve onun düzenleyicileri Mdm2'nin embriyo implantasyonunda da rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir (55,60). Normal hücrelerde Rb hücre siklusunu G₁ fazında inhibe eder. Retinoblastoma ve osteosarkom tümör hücrelerinde Rb gen inaktivasyonu

gösterilmiştir. Büyüme uyarısı, hücreden büyüme faktörlerinin salınımı ile başlar. Büyüme faktörleri hücre zarında özgün reseptörlere bağlanır ve sinyaller sitoplazma proteinlerine iletilir. Bu sinyaller çekirdekte transkripsiyon faktörlerinin salınımına ve hücrenin hücre siklusuna girmesini sağlar. Hücre siklus saati hücre siklusunun ilerleyip ilerlemeyeceğini belirler veya hücreyi ölüme yönlendirir (55,59).

2.7.2. Hücre Siklus Kinazları

Hücre siklusu siklinler (cyc=cln), siklin bağımlı kinazlar (cdk) ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CDI) tarafından kontrol edilir. Bu proteinlerin düzeyleri hücre siklusunun farklı fazlarında farklılıklar gösterir. Siklin bağımlı kinazlar G_1 -S- G_2 ve mitoz geçişi kontrol eder. Memeli hücrelerinde hücre siklusunun düzenlenmesinde işlevleri en iyi bilinen onbir tane siklin bağımlı kinaz (cdk 1-11) ve 16 siklin (siklinD (D_1 , D_2 ve D_3); siklin E (E_1 , E_2), siklin A (A_1 , A_2) ve B (B_1 , B_2)) rol oynamaktadır (55,57,58,59). Siklin D, E, G_1 /S fazlarının sınırında geçici olarak sentez edilir ve hücre S fazına girdiğinde hızla yıkılır, Siklin A ve B, S/ G_2 /M faz geçişlerinde sentezlenir, siklin A_1 mayoz ve embriyogenez de, siklin A_2 çoğalan vücut hücrelerinde bulunur. Siklin B_1 'in siklin B_2 'nin fonksiyonlarını kontrol ettiği düşünülmektedir. Cdk'lar protein fosforilasyonu yapan enzimlerdir. Cdk aktivitesi DNA sarmalının açılması için gereklidir. Replikasyon öncesi kompleks'in (PRC:Pre replicative kompleks) birkaç bileşeni fosforile olur. Yeni replikasyon orijinleri mitozun sonunda cdk aktivitesi düşene kadar yeni PRC kompleksleri oluşturamaz. Bundan dolayı her hücre siklusunda DNA bir kez replike olur.Cdk'lar siklin'e bağlandığında aktifleşerek aktif siklin-cdk komplekslerini oluştururlar. Siklinler bu komplekslerin düzenleyici alt birimleri, cdk'lar ise katalitik alt birimleridir. Cdk, siklin (yapısal proteini) ve kinaz enziminden oluşmaktadır. Herbir cdk katalitik altbirimi farklı düzenleyici altbirimle bir araya gelebilir. Hücre siklusu boyunca kinaz komplekslerinin aktivite düzeyi değişir. Bu nedenle hücreler DNA'larını bir kez replike eder ve kromozomların yavru hücrelere uygun dağılımı sağlar. Siklin-siklin bağımlı kinaz komplekslerinin (cyc-cdk) düzenlenmesi, cyc altbiriminin hücredeki konsantrasyonuna, fosforillenme durumuna ve inhibitör moleküllere bağlıdır. Siklinler hücre siklusunun farklı fazlarında bir taraftan sentezlenirken diğer taraftan da yıkılırlar. Memelilerde Cdk 2, Cdk 4 ve Cdk1(cdc 2)'in, siklin D, E, A ve B ile birlikte ekspresyonu olmaktadır (55,57,59). Siklin E ekspresyonu E2F transkripsiyon

faktörlerine bağlıdır. Her bir siklin özgün olarak belirli bir fazda en yüksek değere ulaşır, sonraki faza girerken hızla yıkılır. Siklinlerin düzeyleri transkripsiyon düzeyinde düzenlenir. Yıkımları ise 'ubiquitin" yolağı ile sağlanır. Aktif cyc-cdk komplekslerinde cdk altbirimi Thr 161 amino asidinden fosforillenmiştir. Bu fosforilasyon cdk'yı aktive eden kompleks (cak)'ın aktivitesi ile meydana gelir. Bir kez aktive olan cyc-cdk kompleksi, DNA replikasyonu ve mitozdaki birçok islemin kontrolünde rolü olan proteinleri fosforiller. Protein kinazlarla cyc-cdk altbirimlerinin fosforilasyonu ile kinaz kompleksi inaktive olur (55,58,59). Cdk'ların aktiviteleri sadece siklinlerle düzenlenmez ayrıca fosforilasyon ve defosforilasyona yol açan başka yollarla da düzenlenir (55).

Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI): Hücre siklus inhibitör proteinleri (CKI) cdk aktivitesini kontrol eder. Bu proteinler cyc-cdk kompleksi oluşumunu ve DNA replikasyonunu inhibe eder. CKI'lar hücre siklusunu frenlediklerinden tümör baskılayıcı genlere de adaydır. Etkiledikleri cdk ve inhibisyon mekanizmalarına göre iki farklı CKI ailesi vardır. Bunlardan ink 4 ailesinde *p15*, *p16*, *p18*, *p19'* G₁ fazındaki cdk4 ve cdk6'yı bağlayarak cyc-cdk kompleks oluşumunu inhibe eder. Cip/Kip ailesinde ise *p21*, *p27*, *p57* bulunmaktadır. Cip/Kip ailesi cyc-cdk kompleksini inhibe etmektedir. G₂ fazında siklin B cdk1(cdc-2)'in tam aktivasyonunu sağlayarak mitoz girişini tetiklemektedir. Genellikle, farklı kanser hücrelerinde hücre siklusunun G₁ -S fazını kontrol eden proteinlerin inaktif olduğu, G₂ -M fazlarını kontrol eden proteinlerde ise değişimin daha az olduğu belirtilmektedir (55,56,57).

2.7.3. Normal Hücrelerde G₁ -S Geçisi

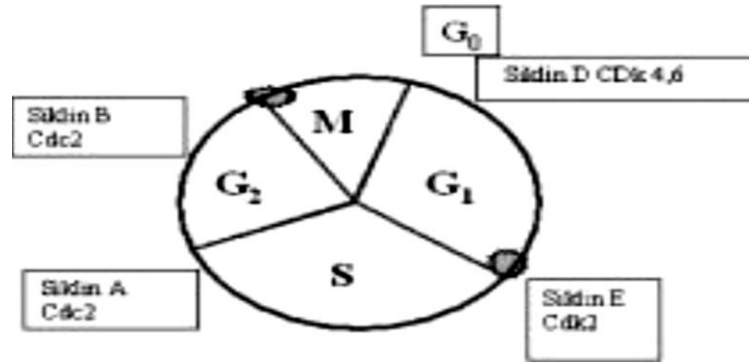
Büyümeyi uyaran sinyaller G₁ fazı başlangıcında siklin D düzeyini sonraki evrede ise siklin E artışına neden olur (Sekil 7) (55,57,59). Kısıtlayıcı noktada (R point) büyüme inhibitör faktör (Rb, Retinoblastoma) hücrenin S fazına girip girmeyeceğini belirleyen anahtar gibi rol oynar (55,58,59). Kısıtlayıcı nokta geçilirse hücre DNA sentezinin olduğu S fazına girer. DNA sentezi sırasında iplikçiklerin birbirinden ayrılması ile DNA hasara çok duyarlı hale gelir ve bu nedenle S fazı hızlı geçilir. Hücre siklusunun ilerlemesi Rb proteininin fosforillenmesi ile belirlenmektedir. Az fosforillenmiş (hipofosforile) E2F transkripsiyon faktörünü bağlayarak inaktifleştirir (55). E2F'nin inaktifleşmesi sonucu hücre S fazına ilerleyemediğinden siklus durur. İstirahat halindeki (G₀ fazında) hücre bölünme sinyali aldığı anda hipofosforile Rb G₁ fazının sonuna doğru

cyc'nin cdk ile birleşmesi ile cyc-cdk kompleksini oluşturur ve bu kompleks Rb proteinini fosforiller (55,58). Fosforillenen Rb proteininden E2F salınır. E2F 'nin siklus ilerletici etkisi ile S fazına giriş için gerekli genlerin transkripsiyonu aktive olur ve hücre S fazına girer (55,59). Hücre siklusunun S fazına geçisini G₁ fazında aktive olan siklinler sağlar. G₀ fazında bu siklinlerin çoğunun ekspresyonu olmaz. G₁ cyc-cdk kompleksleri transkripsiyon faktörlerini aktive etmektedir. Büyüme faktörleri, otokrin uyarım, lektinlerle mitojenik uyarım veya Ras yolağı gibi hücre içi sinyal yollarında mutasyon, hücrelerin tekrar G₁ fazından siklusa girmelerini uyarabilir (55,59). İstirahat halindeki hücrelerde, başlangıçta mRNA'sı stabil olmayan siklin D az miktarda bulunur. G₀ 'da büyüme faktörleri ile uyarım, siklin D sentezini ardından siklin E'nin birikimini uyarır. Büyüme faktörleri olmadığında siklin D düzeyi hemen düşer. Embriyonik hücrelerde siklin E düzeyleri devamlı yüksektir(55,56,58). Hücre siklusunda Rb aktivitesi ICBP90 transkripsiyon faktörü ile protein düzeyinde düzenlenebilir. G₁ -S geçişinde, büyüme faktörlerine cevap olarak siklin D düzeyi artar. Siklin D artışı ile siklin D-cdk 4(cdk 6) kompleksi oluşur. Siklin D ve cdk 4'ün ve de onların aktif komplekslerinin birikimi p16'nın inhibitör rolünü ortadan kaldırır ve Rb (retinoblastoma gen) fosforillenir. Az fosforillenen Rb, E2F transkripsiyon faktörün inaktivasyonuna neden olan histon deasetilaz (*HDAC*) enzimine bağlanır. Rb 'nin fosforillenmesi S fazının başlaması ve ilerlemesi için gereken genlerin geçici olarak aktivasyonunda rolü olan E2F transkripsiyon faktörün baskılanmasını kaldırır. G₁ de siklin E -cdk2 kompleksi (MTOC) mikrotübülleri organize eden merkezin iki sentromere dublikasyonunu aktive eder (55). Siklinlerin uyarıcı etkileri CDK inhibitörleri CKI tarafından önlenmektedir. G₁ /S fazı geçisi için ön koşul CKI ların baskılanmasıdır. Örneğin hücre siklusuna giriş için siklin D düzeyinin yükselmesi yeterli değildir. *ERK* (extracelllular signal regulated kinase) aktivasyonu da geç G₁ 'de cdk'ların aktivitesini artırmak için birkaç aşamada rol oynar. *ERK* aynı zamanda CKI'ların inhibisyonunda da rol oynamaktadır (55,61).

G₁ fazı boyunca hücre çoğalmasını engelleyen birçok genin baskılanması için *ERK*'in süreliaktivitesi gereklidir. Tek başına *ERK* aktivasyonu hücre siklusuna girişi sağlamaya yetmez. Vücut hücrelerinde *ERK*, hücre siklusunun G₂ /M fazında aktive olur. Metafazda tutulan hücrelerde *ERK* fosforillenmemiş durumdadır. Eş zamanlı çoğalan (senkronize) HeLA ve NIH 3T3 hücrelerinde *ERK* 'in aktivasyonunun S fazının

sonuna doğru meydana geldiği ve mitoz sonuna kadar aktif halde kaldığı belirlenmiştir. MEK (MAPK kinaz) inhibitörleri ile ERK aktivasyonu bloke edildiğinde mitoz girişin geciktiği ardından metafazdan anafaza gecikmeli geçişin mitoz süresinin uzamasına neden olduğu belirtilmektedir. G_2 /M geçişinde ERK inhibe edildiğinde M faz süresi iki kat artar. ERK aktivasyon yolları henüz tam olarak anlaşılamamıştır (55,61).

Genellikle normal hücrelerde p53, MDM2 proteinine bağlı olarak inaktiftir. p53 ubiquitin ligazla yıkıma uğradıktan sonra aktive olur. Aktive olan p53, p21 ekspresyonunu aktive eder. p21 G_1 -S (cdk) ve S (cdk) komplekslerine bağlanarak onları inhibe eder ve hücre siklusu durur. Siklusun durması hücreye tamir için zaman kazandırır. Radyasyon ve ilaç gibi hücrenin strese maruz kaldığı durumlarda DNA hasarı olursa, hücre bu uyarıya p53 düzeyini artırarak yanıt verir. p21'in aktivasyonu sağlanarak G_1 kontrol noktasında Rb proteinin daha fazla fosforlanması önlenerek hücre siklusu durdurulur. p21 siklin-cdk kompleksini inhibeetmesi yanında "proliferating cell nuclear antijen (PCNA) ide inhibe eder. Timidin ve metotoraksat (methotraxate) gibi ilaçlar hücre siklusunun ilerlemesini engeller (55).



Sekil 7.Hücre siklusu siklin ve CDK (Siklin bağımlı kinazlar) tarafından düzenlenir

2.7.4. Normal Hücrelerde G_2 –M Geçışı

Hücreler DNA sentezinden sonra G_2 fazına girer. Siklin B-cdk1 kompleksinin aktivitesi artar, mitoz giriş uyarılır (55,59). Siklin B-cdk1 kompleksi mitozu ilerleten faktör (MPF) olarak da isimlendirilmektedir. Geç S fazında siklin B sentezlenmeye başlar ve sentez mitoz boyunca devam eder, mitoz tamamlandığında siklin B düzeyi hızla düşer. Bu düşüş aktif MPF kompleksinin oluşmasını ve ikinci hücre bölünmesini engeller. Siklin B düzeyi sitoplazma ve çekirdek arasında aktif taşınila düzenlenir. İnterfaz

(G₁,S,G₂) aşamasında siklin B sitoplazmadadır. Mitoz başlangıcında siklin B cdk 1'e bağlanarak aktif MPF kompleksini oluşturur. İnhibe edici fosforillenme aynı zamanda MPF aktivitesini düzenleyebilir. Cdk1 altbiriminin ikinci kez fosfofosforilenmesi siklin Bcdk1 kompleksi-ni inaktive eder. *Wee 1*, nükleer protein kinaz, çekirdekte MPF kompleksini inaktive ederek erken mitozu engeller.*Wee1* 'ın cdk1 altbiriminin ATP bağlama bölgesini fosforillesmesi ile MPF kompleksi inaktive olur. *Myt 1*, golgi aygıtında lokalize olan protein kinazdır. *Myt 1*, cdk1'i fosforiller ve interfazda onun siklin B ile bağlanmasını düzenler. Cdc25, cdk'lardan inhibe edici fosfat gruplarını kaldıran fosfatazdır. Cdc 25 hücre siklusunun çeşitli fazlarına ilerlemeyi kontrol eder.Bu asama mitoz giriste hız sınırlayıcı basamaktır. cdc25b proteininin G₂ fazında birikimi ilk MPF aktivasyonunda kritik rol oynar. cdc25c protein düzeyi hücre siklusunun bütün fazları boyunca sabit kalır. G₂ -M geçişinde, cdc25c çekirdekte birikir ve mitoz başlangıcında MPF kompleksini aktive eder. DNA'sı replike olmamış hücrelerin mitoz girişini MPF kompleksinin inaktive olması ile önlenir. G₁ fazını geçen hasarlı hücreleri ortadan kaldırmak için G₂ fazı kontrol noktalarında siklin-cdk-CKI sistemi gereklidir. Bu kontrol noktası sağlam olmayan kromozomların ayrılmasını önler.G₂ fazında, S fazında replike olmuş DNA ve kromatin proteinleri kondanse olur ve kardeş kromatidler olarak paketlenirler. Mitozun metafazaşamasında kromozomlar ekvator plağına dizilir, ardından kutuplara çekildikten sonra iki yavru hücreye bölünür. Sentromerler mikrotübüllere bağlanamazsa mitoz gecikir. Bu olaylarda siklin Bcdk1 gereklidir. Siklin B-cdk1 kompleksi aynı zamanda (MPF) M fazının ilerlemesinde de anahtar rol oynar. Marumato ve ark. siklin B-cdk1(cdc-2) aracılı fosforilasyonla indirek olarak *aurora-A* 'nın aktive olduğunu bildirmişlerdir. Siklin B-cdk1 (cdc- 2) çekirdeğe girişte gereklidir. *Aurora-A* 'nın aktivasyonu nükleer translokasyonu sağlar ve siklin B cdk1(cdc-2)'nin tam aktivasyonu mitoz girişini tetikler. Çeşitli kanser tiplerinde *Aurora-A* 'nın fazla eksprese olduğu belirlenmiştir (55,62).

2.7.5. DNA'sı Hasarlı HücrelerinG₂ –MGeçisi

DNA hasarından sonra, G₂ blogunun olması için cdk 1 defosforillenmesinin inhibisyonu gereklidir. DNA hasarı, cdc-25c'yi fosforilleyen chks1 ve 2 protein kinazların aktivasyonunu sağlar. Fosforillenen cdc-25c, 14-3-3proteinlerine bağlanarak çekirdekten sitoplazmaya taşınır. cdc25c çekirdek içinde bulunursa, siklin B-cdk1

kompleksini aktive eder. Bunun yanısıra siklin B-cdk1 kompleksin aktivitesine gereken çekirdek içindeki cdc25c miktarının yetersiz olmasından dolayı G₂ blok aktive olur. Aynı zamanda p53 de G₂ -M geçişinde rol oynayabilir. DNA hasarında p53 stabil kalmakta ve 14-3-3 transkripsiyonel olarak aktive olmaktadır. Aktive olan 14-3-3 fosforillenmiş cdc 25c'e bağlanır ve kompleksi sitoplazma içinde tutar, böylece mitoz geçişe uygun aktif siklin B-cdk1 kompleksi azalır. p21 ve p53 ikinci tur DNA sentezi yapmış fazla DNA'lı hücreleri G₂ ve M fazında engeller. p53, G₂ 'ye girişi inhibe eden 14-3-3 gen transkripsiyonunu artırarak bu geçişi önlemektedir. 14-3-3 cdc25c fosfatazla birleşir ve bu kompleks cdc25c'nin çekirdeğe girişini inhibe ederek DNA'yı bloke eder (55,59,62).

2.7.6. Normal Hücrelerde Mitoz İplikçik Kontrol Noktası

Mitoz iplikçik kontrol noktası metafazdan anafaza geçişi düzenler. Bu kontrol noktası bütün kinetokorlara uygun mikrotübül bağlanmasını kontrol eder ve kinetokor gözetiminde uygun kromozom ayrılmasını sağlar. Mitotik siklinlerin yıkımından sonra anafaz başlar. Mitotik siklinler ubiquitinlendikten sonra proteozomal yıkım olur. Mitotik siklinlerin yıkımı siklinB-cdk1 kompleksini inaktive eder ve bu inaktivasyon mitozun normal bitmesini sağlar. Mitoz iplikçik kontrol noktası olgunlaşmamış kardeş kromatidlerin ayrılmasını engeller. Bu kontrol noktasında rolü olan genler, *MAD1L1*, *MAD2*, *MAD2L1*, *MAD2B*, *BUB1*, *BUBR1*, *BUB3*, *TTK*, *MPS* ve *CDC20*' dir. Bu genler hücre siklusunun kontroluna katılır. Mayadan insana kadar *MAD* ve *BUB* proteinleri korunmuştur. *MAD* ve *BUB* gen ürünleri kinetokor gözetimi ve anafaz düzenlenmesi için gereklidir. *MAD* proteinleri doğru kromozom ayrılmasını, *BUB* gen ürünleri ise mitozun ilerlemesini düzenler. *Drosophila Melonogaster*, *C.elegans* ve farede mitoz iplikçik kontrol noktasının tamamen kaybolmasının embriyon ölümüne neden olduğu gösterilmiştir (55,58,62). DNA sentezinden sonra kohesin protein kompleksleri kardeş kromatidleri birarada tutar ve kromozomlar oluşur (55,62). Mitoz iplikçik kontrol noktası anafaz promoting kompleksi (APC) düzenler. CDC20pAPC'yi aktive eder ve *pds1p* ubiquitinlenme ile yıkılır. *Pds1p* 'nin yıkılması ile separin *Esp 1* aktive olur ve kohesin salınır, böylece anafazda kardeş kromatidler ayrılır. CDC20p'nin APC'yi aktive etmediği durumlarda kohesin salınmaz, kardeş kromatidler ayrılamaz ve anafazda inhibisyon meydana gelir (55,60). CDC20'nin *MAD2*, *BUBR1*, *BUB3* ile kompleks

oluşturması anafaza girişi beklemeye alır.

2.7.7. Kanser ve Kontrol Noktası İnaktivasyonu

Gen mutasyonlarından dolayı G_1 -S geçişindeki değişimler kansere neden olabilir. Kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerinden biri büyüme uyarımından bağımsız olarak G_1 fazına tekrar girebilmeleridir. Rb fosforillenme/defosforillenme dengesizliği olduğunda, G_1 -S fazları arası geçişlerde olan değişiklikler hücrelerin çoğalmasını değiştirebilir. Rb gen mutasyonları insan kanserlerinden bazılarında (glioblastoma ve Retino-blastoma vb) tanımlanmıştır. Tümör virüsleri HDAC ile Rb 'nin bağlanmasını inhibe edebilir. Siklin D'nin fazla eksprese olduğu bazı durumlarda ise E2F aktiflesmesinden sonra Rb inhibisyonunu sağlayan defosforillenme olmadığında S fazına hatalı ilerleme olabilir (55,62).

Kusurlu G_1 siklin E-cdk2 kompleksi sentriollerin hatalı replikasyonunu uyarmaktadır. Hücrede iki veya daha fazla sentriolün varlığı anafazda hatalı kromozom ayrılmasına neden olur. Bazı insan kanserlerinde sentriollerin fazla dublikasyonu da belirlenmiştir (55,58,62).

2.7.8. DNA'sı Hasarlı Kanser Hücrelerinde G_1 -S Geçisi

Radyasyon v.b. etkenlere maruz kalan hücrelerde hücre siklusunda hatalar olmaktadır. Örneğin Gama radyasyonuna maruz kalan hücrelerde fonksiyonel p53 geninin yetersiz olmasından dolayı bu hücreler G_1 'de tutulamaz ve S fazında hasarlı DNA'yı dublike ederek gen mutasyonuna ve/veya hatalı kromozom dizilimine neden olur (55,62). Hücre çoğalmasını gen delesyonu, fazla gen ekspresyonu ve nokta mutasyonlar etkilemektedir. İnsan kanserlerinde farklı genlerde nokta mutasyonlar ve delesyonlar vardır. İnsan kanserlerinde en sık görülen mutant gen p53 'tür. Normal bir hücrede DNA hasarı olduğunda, p53 düzeyi artar ve hücre siklusunu G_1 fazında inhibe ederek DNA onarımı için hücreye zaman kazandırır. Hasar tamir edilemiyorsa hücre apoptozise gider (55). Hasarlı hücrenin ölümü veya hücre siklusunda kalmasının nasıl sağlandığı tam olarak bilinmemektedir. p53 mutasyonlarında hücreler bölünmeye devam eder. Bu mutasyonlar sonucunda tümör baskılayıcı fonksiyonlarında kayıp olurken diğer yandan onkojenik fonksiyon ortaya çıkabilir (55,62). Muskarinik reseptör agonist ve antagonistler varlığında çoğaltılan K562 hücrelerinde siklin D_1 transkripsiyon

seviyelerinin değistiği belirlenmiştir. Bellamy ve ark. 5 gray gama radyasyonunun fibroblastlarda büyümenin durmasına, aynı doz radyasyonun ince bağırsak kript hücrelerinde ise apoptozise neden olduğunu göstermişlerdir (55). p53 aynı zamanda cdk'ların inhibitörü *p21* transkripsiyonunu artırarak da DNA hasarına yanıt verir (55,58,62). S fazında eksprese edilen siklin A erken fazda cdk2 ile sonraki fazda cdc ile birleşir. Siklin-cdk kompleksi DNA sentezinin başlamasında rol oynar, cdk ekspresyonunun inhibisyonu ise hücre siklusunun durmasına neden olur (55,59). ATM (Ataxia Telangiectasia Mutant kinaz) tarafından p53 'n aktivasyonu DNA onarımı ve apoptozisi koordine eden DNA hasar sinyal yollarına aracılık eder. ATM çift iplik kırıklarına cevapta ve *ATR* (*ATM* ve *Rad3* related) olarak adlandırılan kinaz diğer tip DNA hasarlarına cevapta önerilmektedir (55). Hücre siklusunda *ATM* ve *CHK2* ekspresyonu nispeten devamlı olmasına ragmen *ATR* ve *CHK1* G₁ fazının başında ve ortasında düşüktür. *ATR* ve *CHK1* G₁/S geçişine yaklařtıķa önem kazanır. *ATM/ATR*p53 transkripsiyon faktörünü fosforiller. Ubiquitin kinaz, *MDM2* p53 'n hızlısirklasyonunu sağlamaktadır. Ayırıcı hedef mekanizmalar hala açıklanamamıştır. p53 'le uyarılan G₁ fazında duraklamada *p21Cip1/Waf 1* 'in rolü vardır. Aynı zamanda *PCNA* (proliferating cell nuclear antigen) inaktive olmaktadır. *PCNA*, DNA sentezini katalize eden, DNA tamirinde yer alan DNA polimeraz delta'nın kofaktörüdür. Sentezi hücre siklusunun geç G₁ fazında baslayarak orta-geç S fazında en yüksek değere ulaşmaktadır. *p21*, cyc-cdk kompleksini inhibe etmesi yanında *PCNA* 'i de inhibe eder. Hücre siklusunun G₁ /S fazında durdurulmasında yeni belirlenen nükleer protein ICBP90 'un *p53/p21Cip1/WAF 1* aracılı ylaklarda hedeflerden biri olarak önerilmektedir. İnsan *Rad 9* ve *Rad 17* proteinlerinin S fazı başlangıcındaki kontrol noktasında ve kromozom kararlılığının sürdürülmesinde önemli olduğu belirlenmiştir. *Rad 9* 'un ATR kinazla büyük protein kompleksinin fosforillenmesine aracılık ettiği de önerilmektedir. p53 ve Rb protein fonksiyon kaybının nedenleri mutasyon, delesyon veya diğer proteinlerle bağlanma olabilir. Rb kontrolü kanser hücrelerinin bir çok tipinde bozulmaktadır. Rb kontrolünün bozulma nedeni Rb fosforillenmesinde rolü olan siklin ve cdk'larda onkojenik mutasyonlardır. *p53* fonksiyonu cdk 4 ve cdk 6 supressorlerinin fazla ekspresyonu ile baskılanır. Genomda onkogenik lezyonlara *p53* fonksiyonunun bozulması neden olur. Bunun nedeni *p53* 'n apoptozis öncesi düzenlenmesinin gerçekleşmemesidir (55). Hücre siklusunda kontrolün kalkması *p21*,

p27, *p57* gibi *p53* 'ün downstream genlerinde kusurlara neden olabilir. Cdk'ların ve siklin-cdk komplekslerinin aktivitelerini Cdk (*p21*,*p27*, *p57*)'nin inhibitörleri inhibe eder ve hücrenin S fazına girişini engeller (55,58,62). Bazı tümörlerde *cdk4* ve *cdk 6*'nın negatif düzenleyicileri olan *p15* ve *p16* 'nın mutant olduğu da rapor edilmiştir. Tümör hücrelerinin bir kısmında *cdc4* de kusurlar veya *cdc4*'ün ekspresyonunun fazla olmasından dolayı siklin E düzeyi normal değildir. Bazı tümör hücrelerinde siklin E-cdk2'nin negatif düzenleyicisi olan cdk inhibitörü, *p27* 'nin kaybolduğu da belirlenmiştir (55).

2.7.9. p53 Aracılı Apoptosis

p53 ve *Bcl 2*, programlı hücre ölümünde anahtar rol oynayan genlerdir. Normalde *p53* hücre akıbetini belirleyen moleküler ağı düzenler. *cMyc* (nükleer fosfoprotein) *p53* 'ü seçici olarak aktive eder ve apoptozisi başlatır (55,57). Nükleer fosfo protein *cMyc*, *Fas* ligand ve reseptörle birleşir. Bu proteinin bağımlı ve bağımsız yollar ile sitokrom c salınımını indükleyen *bax* 'ın transkripsiyonunu düzenlediği de düşünülmektedir. Hasarlı hücrelerde fonksiyonel *p53* yoksa, hücre siklusu kontrol noktaları tarafından kontrol edilmeden siklus ilerler (55,59). *p53* 'ün düzenleyici aktivitesini geçtiğini gösteren alternatif yol ise *p53*'un negatif düzenleyicisi *Mdm2* (murine double minute 2) dir. *Mdm2* proteini, *p53*'ü kontrol altında tutar ve *p53*'ün G_1/S geçişinde siklusu durdurmasını ve apoptozisi engeller. Radyasyon ve benzeri etkenlerle hücre etkilendiğinde *Mdm2* proteininin *p53*' bağlanma bölgesinde yapısal değişiklikler meydana gelir. Bu nedenle *Mdm2* *p53* ü bağlayamaz ve serbest *p53* transkripsiyonel aktivitesi ile G_1 ve G_2 kontrol noktalarında siklusu durdurur ve *bax*genini aktive ederek apoptozise neden olur. *Mdm2*, *p53* 'ün transkripsiyonunu azaltır ya da *p53*'e bağlanarak aktivitesini inhibe edebilir. Lösemi, lenfoma, sarkoma glioma ve meme kanserinde *Mdm2* gen amplifikasyonu gösterilmiştir (55,57). Çok organize bir işlem olan apoptozis zararlı ve anormal hücrelerin yıkımını sağlamaktadır. Apoptozis yolunda iki düzeyde mekanizma bozuklukları görülür: 1. Apoptozisi düzenleyen genlerde mutasyon ve bu nedenle apoptozise gitmeyen hücrelerin yaşamasıdır ve 2. Apoptozise direnç geliştiren hücrelerin Darwinizm (dogal seçim) ile seçilip yaşamaya devam etmesidir (55).

2.7.10. Apoptozise Karşı Mekanizmalar

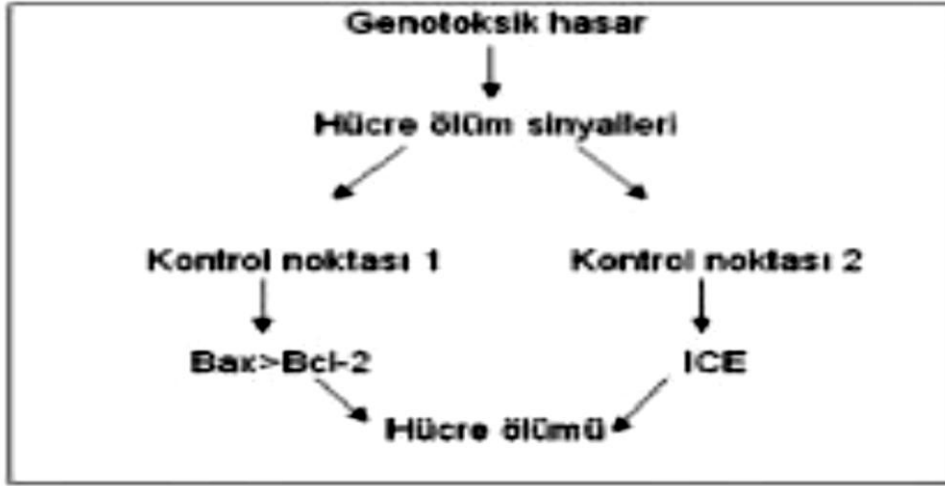
Bcl 2 hücre ölümünü inhibe ederek hücreyi apoptozise karşı korumaktadır. Bu ailenin diğer üyelerinden *Bcl-xL*, *mcl* ve *bag 1* hücre ölümünün inhibitörleri iken *bad*, *bax* ve *bik* apoptozisi ilerletirler. *GADD45* (a growth arrest and DNA damage (gadd)-induced gene) hücre siklusunun G₂ -M kontrol noktasında önemli rolü olan nükleer proteindir. Bu protein *cdc2* proteini ile etkileşerek *cdc2* kinaz aktivitesini inhibe etmektedir. *cMyc*, *GADD45* ve *cki* genleri *p15*, *p21*, *p27* 'yi baskılayarak hücre büyümesini sağlar. Yaşam faktörleri olmadığında *c-Myc* onkogeni hücreleri apoptozise götürür. Apoptozis öncesi ve sonrası olaylar tamamen açık değildir. *Bcl-2* mitokondrinin dış zarında bulunur ve mitokondriden sitokrom c salınımını bloke eder. Sitokrom c kaspazları aktive ederek apoptozisi indüklemektedir. *Bcl-2*'nin ekspresyon düzeyi apoptozisi belirleyen faktörlerden birisidir. *Bcl-2* ekspresyonu fazla olan hücreler hücre ölümünden kaçabilir (55). Antiapoptotik *Bcl-2* üyeleri kaspaz aktivasyonunu önleyerek antiapoptotik etki gösterirler. Bazı çalışmalarda *Bcl-2* çok yüksek bulunmasına rağmen hücre ölümünün arttığı da gösterilmiştir. NF-kB transkripsiyon faktörünün *Bcl-*

2 ailesini up-regule ettiği bilinmektedir. *Bcl-2* aynı zamanda *Ras2* nin antiapoptotik aktivitesini de düzenler. *Bcl-2* nin diğer düzenleyici mekanizması, *bax* gibi büyüme düzenleyicilerinin aktivitesini inhibe ederek apoptozisi engellemektedir (55,57,58).

2.7.11. Apoptozis Kontrol Noktaları

Apoptozisin olup olmayacağını *Bax* ve *Bcl-2* dengesinin doğruluğu belirler (55,58). Hücrelerin apoptozise gitmesi için *Bax* düzeyinin *Bcl-2* 'den fazla olması gerekir (55,59). Bu mekanizma apoptozisde kontrol noktası 1 olarak önerilmiştir (Şekil 8). Yaban tip p53 varlığında *Bcl-2* ekspresyonu az olan hücreler apoptozise gider. Tersine olursa yaban tip p53 az, *Bcl-2* fazla ise çok mutasyon olabilir. Bunun nedeni hücre proliferasyonunun aktive olmasıdır. *Bcl-2* ailesinin en büyük proteini *Bcl-XL*, *Bcl-2* 'ye benzer yolda hareket eder ve *Bcl-2* aktivitesini baskılayan *Bak* apoptozise neden olur. Apoptozis yolağında ikinci kontrol noktası çok iyi belirlenmemiştir. İnterlökin converting enzim (ICE) prokaspaz 1 olarak bilinmektedir. ICE DNA onarım enzimleri ile etkileşmektedir. Polyadenosin difosfat-riboz polimeraz DNA kırıklarını tanır ve DNA onarımına katılır. Nükleer membran proteini lamin A, PARP'ı parçalar ve

apoptotik hücre morfolojisi meydana gelir. ICE ile PARP inaktive olursa, apoptozis başlar (55,59).



Sekil 8.Apoptozis kontrol noktaları

2.7.12. Kanser Hücrelerinde G₂-M Geçisi

Kanser gelişiminde ve/veya hastalığın ilerlemesinde G₂ -M geçişinde değişimlerin rol oynadığı belirlenmiştir. İyonize edici radyasyon Ku homologu olan protein kinazları, ataxia telegiectasia mutant (*ATM*) ve *ATM* ilişkili (*ATR*) genleri aktive eder (55).

Mayada yapılan çalışmalarda telomer idamesi ve DNA onarımı arasındaki bağlantı gösterilmiştir. *Ku*, DNA kırıklarının onarımında homolog olmayan uçlar için gereklidir. *Ku* telomerik DNA'ya bağlanır ve G zengin dizilerin islenmesine katılır. Telomer idamesinde rolü olan *Ku*, DNA'larında çift iplik kırığı olan hücrelerin G₂ -M geçişinde aktive olmaktadır (55,63). *Chk1* ve *Chk2* protein kinazlar ilk olarak mayada gösterilmiştir. Bu kinazlar, DNAhasarı sonucu aktive olan hücre siklus kontrol noktalarında önemli rol oynamaktadır. Mutant *Chk2* Li-Fraumeni sendromlu hastalarda bulunmuştur. *Chk2* tümör baskılayıcı gen olmaya adaydır. DNA hasarının ardından, *Chk1* ve *Chk2* yalnız G₂ bloğunu uyaran *cdc25c*'yi fosforillemez; aynı zamanda stabilizasyon için fosforilasyonunuda uyarır. Mikrotübül inhibitörlerinin yaban (wild) tip p53 ü fare embriyo fibroblastlarına verilmesi ile G₂ -M geçiş bloğu aktive olmaktadır. Bunun yanı sıra mutant p53'lü hücrelerde hücre siklusu durdurulamamıştır. Bu blok kromozomların ayrılması ve mitoz tamamlanmadan önce diğer S fazına geçisi önleyerek aneuploidiyi engellemektedir. Böylece mutant p53 uygun kromozom

ayrılması olmaksızın tekrar tekrar döngüye neden olarak genomik dengesizliğe neden olmaktadır (örneğin aneuploidi). Bu cdk'ların aktivitelerinin inhibisyonu ile gerçekleşir (55,62). Bu geçişin inhibisyonu p53 ün G₂ 'ye girişi inhibe eden *14-3-3* geninin transkripsiyonunu artırmasıyla sağlanmaktadır. *14-3-3 cdc25c* kompleksi, *cdc 25c*'nin çekirdeğe girişini engeller (55,59). Memelilerde DNA hasarı sonucunda tetiklenen sinyal ileti kaskadında *ATM* ve *ATR* protein kinazların önemli rolleri vardır. *chk1* ve *chk2* bu kinazların kontrol noktası fonksiyonlarına aracılık etmektedir. *ATM* ve *ATR* stress olmadığında aktive olmazlar ancak strese maruz kalınca aktive olmaktadır. *ATM* kinaz normal hücre siklusu ilerlemesinde veya hücre farklılaşmasında gerekli değildir (55).

2.7.13. Kanser Hücrelerinde Mitoz İplikçik Kontrol Noktası

Bazı araştırmacılara göre kanser gelişimini ve genomik dengesizliği mutasyon oranları ile açıklamak mümkün değildir. Genomik dengesizlik somatik hücre gen mutasyonu veya aneuploidi gibi kromozom anomalileri içerebilir. Aneuploidi tümör baskılanmasında, hücre siklusunun düzenlenmesinde, sentrozom oluşumu ve fonksiyonunda, hücre büyümesi, metastaz ve metabolizmada bulunan çok sayıda genin dengesizliği olarak tanımlanabilir (55,62). Kanser gelişimi ve ilerlemesinde aneuploidilerde mitotik kontrol noktası içindeki *MAD* veya *BUB* genlerindeki mutasyonların rol oynayabileceği önerilmektedir. Bu mutasyonlar mitotik kontrol noktası değişimine, metafazdan anafaza geçiş sırasında kromozomların yanlış ayrılmasına ve aneuploidiye neden olur. Bu tip mutasyonlar ilk olarak aneuploidi fenotipli olarak sınıflandırılan 19 kolorektum kanser hücre soyunda çalışılmıştır. Ondokuz hücre soyundan ikisinde *BUB1* geninde farklı mutasyonlar belirlenmiştir. Aneuploidili bireylerde *hBUB1*geninde kalıtsal mutasyonlar bulunmuştur. *BUB1* üç fonksiyonel domain içerir: bunlar CD1, nükleer lokalize edici domain (NLS) ve kinaz domain (CD2)'lerdir. CD1 içinde çerçeve kayması ve anlamsız mutasyonlar bulunmuş, NLS veya CD2 domainlerinde ise mutasyon bulunamamıştır. Farklı araştırmacılar aneuploidi belirlenen kanserlerde *BUB* ve *MAD* genlerinde mutasyonlar bulmuştur (55,58). Fakat bu mutasyonlar ile ilgili çalışmalar hala yetersizdir. İnsan kanserlerinde mitoz iplikçik kontrol noktaları hakkında bilinenler çok azdır. İnsan kanserlerinin çoğunda mutant *MAD1* 'in kromozom instabilitesine neden olduğu belirlenmiştir(55,62).

Aurora kinaz ailesi hücre siklusunu G₂/M kontrol noktasından sonra mitoz kontrol noktasında veya mitozun sonuna doğru rol oynar. Aurora kinazlar hatasız hücre bölünmesi için gereklidir. Aurora kinazların kromozom dizilimi, kromozom ayırımında ve sitokinezisde önemli rolleri vardır. Aneuploidi olan tümörlerde Aurora kinaz'ın fazla ekspresyonu ve sentrozom amplifikasyonu belirlenmiştir. Aurora A kinaz p53 gibi tümör baskılayıcı proteinleri fosforilleyerek onların aktivitelerini de düzenlemektedir. Aurora A ve B'nin *ras* yolağı aracılığı ile hücre transformasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle Aurora kinaz inhibitörleri ile hücre siklusu bloke edilerek kanser tedavisine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Aurora B kinaz inhibitörü AZD1152 lösemi tedavisine yeni etken madde olarak önerilmektedir(55,64).

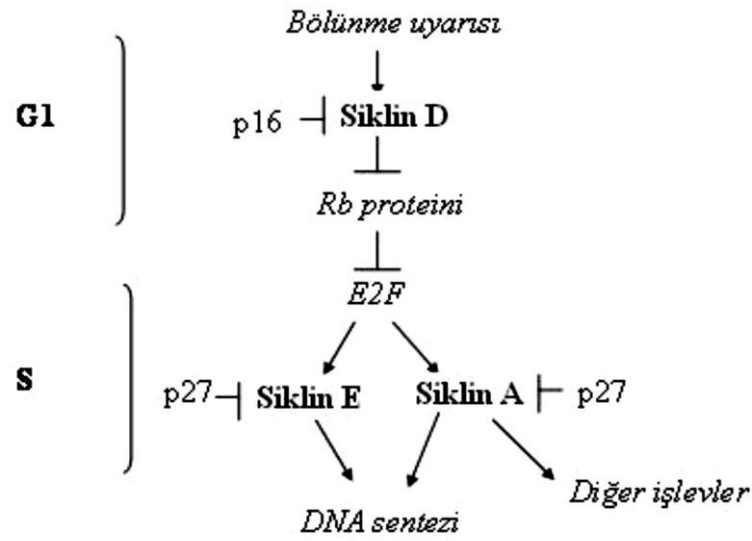
2.7.14. Kanser Hücrelerinde Sentriol Anomalileri

Kanser hücrelerinde sentriollerin fazla duplike olduğu belirlenmiştir. Normal hücreler, hücre siklusunun G₁ fazında siklinE-cdk2 kompleksleri ile sentriol kopya sayısını düzenler. Anormal spindle (*asp*) gen ürünü mikrotübül assosiyasyon eden proteindir. *Asp* proteini kutuplarda herbir mitotik iplikçiğin her bir sentrozoma bağlanmasında rol oynar. Mitozun metafazdan anafaza geçişte tutulmasının nedeni *asp* mutasyonu sonucu anormal iplikçik morfolojisidir. p53, sentrozom replikasyonunda rol oynayabilir (55,62). Fonksiyonel *p53* proteini olmayan fare embriyo hücrelerinde bir hücre siklusu sırasında çok sayıda sentrozom kopyası gösterilmiştir. Mitoz sırasında sentrozom sayısının çok olmasının kromozomların yanlış dağılımına ve bu nedenle aneuploidiye yol açtığı bildirilmiştir (55,57,58).

2.8. GEN POLİMORFİZMİ VE KANSERE YATKINLIK

Gelişimsel süreç içinde tüm türlerin farklılaşmasından ve bir türün üyeleri arasındaki farklılıklardan genetik çeşitlilik sorumludur. Genlerde, genetik çeşitliliğe yol açan bu değişikliklerden biri polimorfizmdir. Genomda çoğunluğu tek nükleotit düzeyinde olmak üzere (insanda on milyon kadar), ikili,üçlü nükleotit tekrar sayılarında değişiklikler ve daha azı kromozom düzeyinde bazı yapısal düzenlemeler şeklinde genetik polimorfizmler vardır. Genetik hastalıklar, DNA'daki bir değişiklik sonucu genin, mRNA ya da protein ürününün niteliğinin ya da niceliğinin (bazen her ikisinin) değişmesi sonucu oluşan hastalıklardır. İnsan genom proje çalışmalarıyla tüm

genomdaki genlerin ve nükleotit dizilerinin belirlenmesinden sonra, genlerin ifade edilme düzeyleri ve ifade edilen gen ürünlerinin yapı ve işlevindeki farklılıklarını belirleme çalışmaları hız kazanmıştır. Somatik mutasyon teorisine göre kanser, birden fazla genetik ve epigenetik faktörün etkisiyle çok aşamalı olarak ve kalıtsal ya da sonradan kazanılmış mutasyonların somatik hücrelerde birikmesiyle ortaya çıkan bir somatik genetik hastalıktır (65).



Şekil 9. G1 ve S evresi siklin molekülleri ile büyüme faktörü (bölünme uyarısı) ve döngüengelleycileri arasındaki ilişkiler

2.8.1. Hücre Döngüsü ve Polimorfizm

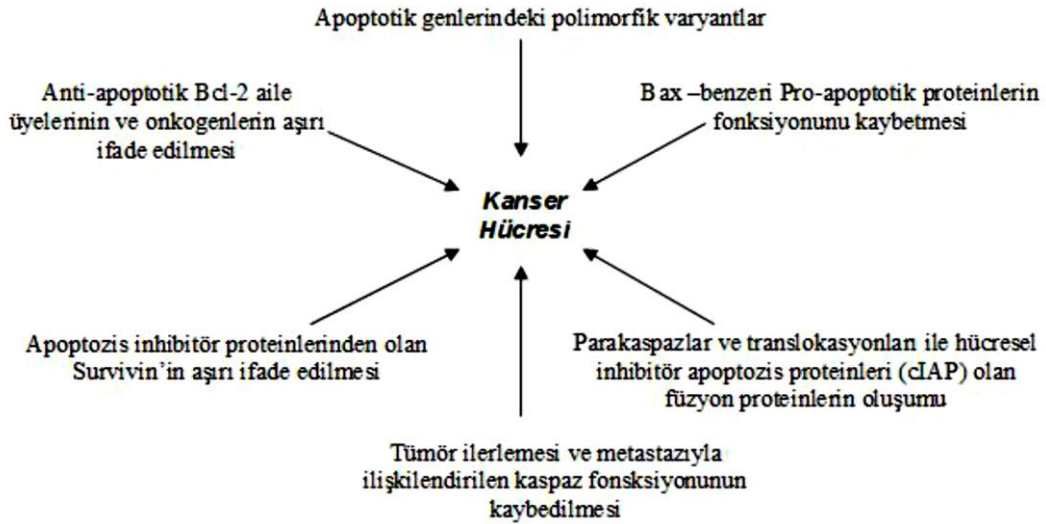
Gen değişimleri, onkogenlerin aşırı ifade edilmesi ve hücre döngüsü düzenleyicileri tümör gelişiminde önemli rol oynayan faktörlerdendir (65,66). Bunlardan hücre döngüsünün denetimi, çoğu biyolojik sürecin ve kansere yol açabilen kontrolsüz hücre çoğalmasının anlaşılmasında asıl ilgi odağı durumundadır. Hücre döngüsünü düzenleyen sistemlerin pek çok bileşeninin kanserle bağlantısı olduğundan kanser, bir hücre döngüsü düzensizlik hastalığı olarak da tanımlanabilir. G1, S, G2 ve M evrelerinden oluşan hücre döngüsünün bir evresinden diğerine geçişi, döngü basamağına göre düzeyleri artan ya da azalan siklin proteinleriyle denetlenir. Döngüde rolü olan pek çok onkogen ve tümör baskılayan gen, G1 kontrol noktasındaki hatalarla ilişkilidir (65,67). G1/S geçiş noktasının denetimi; siklinlerin sentezlerinin ve yıkımlarının denetlenmesi, kendisine bağlanan ve düzeyleri döngü boyunca değişmeyen

ancak aktiviteleri denetlenen katalitik özgün kinazlarla birleşerek siklin-bağımlı kinaz (CDK) kompleksinin oluşumu, bu kompleksin otofosforilasyonla aktifleşmesi, Cip/Kip ve INK4/ARF gibi hücre döngüsü inhibitörlerinin etkisiyle inaktifleşmesi olaylarıyla sağlanır. D-tipi siklinler (siklin D1, D2 ve D3), CDK4 ve CDK6'yı aktive eder ve G1'in ilerleyişinden sorumludur (65). Retinoblastoma (Rb), hücre döngü düzenleyicisi ve tümör baskılayıcısı olarak belirlenen genlerden biridir. Siklin ile oluşan CDK4 ve CDK6 kompleksleri Rb proteinlerini fosforile ederek onu inaktive eder. İnaktif Rb, aktifken kendisine bağlı olan transkripsiyon uzama faktörü-2 (E2F)'yi serbest bırakır (Şekil 9). E2F de, G1/S geçişi ve *S evresine* giriş için gerekli -siklin A, E ve CDK1, myb, dihidrofolat redüktaz, timidin kinaz gibi- genlerin ifade edilmesini sağlar. E2F, diğer döngü düzenleyicileri gibi DNA sentezi, DNA onarımı ve apoptozis olaylarında rol oynamakta ve bazı tümörlerde allele bağlı ifade edilme düzensizliklerine neden olabilmektedir (65,68). Hücre döngüsünün diğer önemli bir düzenleyicisi, tümör baskılayan p53 genidir. DNA hasarına yanıt olarak p53 gen ürünü aktive olur, hücre döngüsü durur. DNA onarımı ve apoptozis olayları başlatılır. Genomik bütünlüğün korunmasında hücre döngü düzenleyicisi olan p53 insan kanserlerinde mutasyonun en sık görüldüğü genlerden biridir. p53, DNA hasarına yanıt olarak etkisini, siklin-bağımlı kinaz inhibitörlerinden (CDKI) biri olan p21 proteininin ifade edilmesini sağlayarak gösterir (65,69). Hücre döngüsünün kontrolü, CDK aktivitelerinin düzenlenmesi, siklinlerin sentezi ve parçalanması, fosforilasyon ve defosforilasyonu, CDKI proteinlerinin sentezi, bağlanması ve parçalanmasını kapsayan pekçok düzeyde yapılabilmektedir. CDKI ailesinden biri olan Cip/Kip ailesi, çoğunlukla siklin/CDK komplekslerine bağlanarak etki gösterir. Örneğin p21, CDK2 ile etkileşir (p21, p27 ve p57 bu ailedendir). CDKI ailesinin bir başka üyesi ise INK4/ARF'dir. INK4 yalnızca CDK4 ve CDK6 ile etkileşir ve bunların siklin D ile birleşmelerini engeller (p15, p16, p18 ve p19 bu ailedendir). ARF ise p53'ün regülatörü olan MDM2 aktivitesini inhibe ederek p53 seviyesini artırır (p14 bu ailedendir). Tüm CDKI molekülleri, hücrede fazla sentezlendiklerinde ve CDK moleküllerini etkisizleştirdiklerinde hücre döngüsünü G1 evresinde durdururlar (65). G1 düzenleyicilerinden siklin D1, CDK4 ve p16, over kanser gelişiminde önemli rol oynarlar. Miktarı artan siklin D1, Rb proteinini fosforilasyonla inaktive etmek için CDK4 ve CDK6 ile birleşir (siklin D1,11q13'te CCND1 geni ya da Prad1 geni tarafından şifrelenir; paratroid adenomda, B hücre

lenfomalarında bu genin translokasyonunun –t(11;14)(q13-q32)- rolü nedeniyle bu isim verilmiştir). Siklin D1'in ifade edilmesinin, bazı hücre tiplerinde hücre–hücre dokunmasının ortadan kalkmasıyla azaldığı ve bu döngü düzenleme etkisinin integrinler ve fokal adezyon kinazlar aracılığıyla gerçekleştiği gösterilmiştir (65,70). Meme,özefagus, squamöz hücreli kanserde siklin D1 lokusunda artış olduğu gözlenmiştir (65,71). Kolorektal kanserlerde, siklin D2 ve E genlerinin çoklu kopya oluşturması nedeniyle mRNA ve protein düzeyinde de aşırı ifade edildiği gösterilmiştir. Bazı meme kanseri hücre hatlarında siklin E geninde artış olduğu ve bu artışın siklin E mRNA düzeyini yaklaşık 64 kat arttırdığı gösterilmiştir (65). Herhangi bir hastalığın oluşumunda ve tedaviamaçlı uygulanan ilaca verilen yanıtta çevre, yaş, beslenme, yaşam biçimi gibi faktörlere ek olarak, kişinin genetik yapı değişikliklerinin rolü yadsınamaz. Bu nedenle toplumların genom yapısındaki varyasyonların, ve kişisel gen mutasyonlarının çalışılması kanser oluşum riskinin, ilaç toksisitesi ve etkinliğinin belirlenmesinde yararlı olmaktadır. Tek nükleotit değişimlerini (varyasyonları, polimorfizmleri) içeren genler, toplumda % 1'den daha fazla sıklıkta bulunan allel genler olarak tanımlanır (65,72). İnsan genom dizilim çalışmaları her insan genomunda DNA'nın % 99.9 benzerlik gösterdiğini kanıtlamıştır. Geriye kalan % 0.1'lik fark, bireysel genotip ve fenotipik değişikliklerin sorumlusudur. Tek nükleotit değişimleri insan genomunda en çok bulunan (ortalama her 1000 nükleotitte bir) DNA dizi değişimleridir. Diğer genetik polimorfizm tipleri; değişik uzunlukta ikili ya da üçlü nükleotit tekrarları ve DNA'da eksilme ya da artmaları içerir. İster döngü düzenleyici molekül isterse yüzlerce hücresel işlevden birinden sorumlu olan herhangi bir genin kodlayıcı bölgesindeki değişiklik, genin ürünü olan fenotipi etkiler. Genin ifadesi ise çoğunlukla genin promotör ya da enhancer gibi düzenleyici bölgeleri (cis elementlerdeki) ve bu bölgelere bağlanan transkripsiyon faktörleri ve diğer yardımcı düzenleyici moleküllerle kontrol edilir (65). Genin kontrol bölgesindeki nükleotit değişiklikleri ve diğer genlerden oluşturulan ve bu düzenleyici bölgeleri tanıyıp bağlanan (trans etkili) düzenleyici proteinlerin genlerinin kontrol ve kodlayıcı DNA bölgesindeki nükleotit dizi değişiklikleri genin ifade edilme düzeyini, bir başka deyişle ürün oluşumu ve miktarını etkiler. Böylece bir genin ifade edilme düzeyi, hem genin kontrol bölgesindeki DNA diziliminin hem de bu bölgeye bağlanan düzenleyici transkripsiyon faktörlerinin farklılığından dolayı kişiden kişiye değişebilir. Hücre

döngüsü denetim noktasında DNA onarımından sorumlu bir kinaz geni olan CHEK2 (CHK2 olarak da bilinir), meme kanser riskinin artmasında rolü olan bir başka döngü düzenleyici gendir. CHEK2 1100delC varyantının, kadınlarda meme kanser riskinin yaklaşık 2 kat, erkeklerde ise 10 kat artmasına neden olduğu gösterilmiştir (65,73). p53 genindeki Pro72 polimorfizminin over kanseri için moleküler belirteç olabileceği belirtilirken, bu allele sahip olmayan meme kanserli hastaların tedavisinde tamoksifenden değil diğer tedavilerden sonuç alınabileceği önerilmektedir. Siklin D1 geninin 4.ekzonunda tanımlanan A870G tek nükleotit polimorfizmi (SNP) farklı bir mRNA ve farklı bir proteinin oluşmasına neden olabilir. Bu polimorfizmin, protein ifade edilme düzeyini değiştirerek özefagus kanserlerinde genomu kararsızlığa götürerek agresif bir klinik sürece götürdüğü gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise bu polimorfizm bakımından AA genotipine sahip olan bireylerin, kolorektal kansere yakanma riskinde artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, endometriyum, özefagus ve kardiyak kökenli kanser hastalarında yapılan çalışmalarda, siklin D1 geninin A870G polimorfizmi bakımından araştırıldığında, AA genotipi ve kanser gelişim riski arasında ilişki olduğu belirlenmiştir. Bunlara ek olarak siklin D1 A870G gen polimorfizmi sigaranın indüklediği akciğer kanser riskini de etkileyebilmektedir. Buna karşın, östrojen/progesteron reseptör negatif ve ileri evre (III ve IV) meme kanserli hastalarda ise, 870 A allelinin sağkalım ile pozitif ilişkisi olduğu gösterilmiştir. McKay ve arkadaşları yüksek düzeyde siklin D1 protein ifade edilmesi ile kolorektal kanser arasında pozitif ilişkili olduğunu, ancak A870G polimorfizminin siklin D1 protein ifadesi ve sağkalım ile ilişkisi olmadığını göstermişlerdir. CDKI ailesi üyelerinden p16INK4A (CDKN2A) geninde tanımlanan A148T varyantı erken yaşta gelişen meme, malign melanom ve akciğer kanserleri ile ilişkilendirilmiştir. Cip/Kip aile üyesinden biri olan p21CIP1/WAF1 (CDKN1A) geninin 31. kodonundaki C/A transversiyonu sonucu serin yerine arjininaminoasitin kodlanmasıyla sonuçlanan bir polimorfizm tanımlanmıştır. AA genotipinin akciğer, mesane kanser gelişimi ile, CC genotipinin ise özefangal kanser oluşumu ile ilişkisi gösterilmiştir. Genin 3'translasyona uğramayan bölgesinde yer alan (stop kodonunun 20 baz çifti aşağısında) ve 31.kodon polimorfizmi ile bağlantı gösteren C/T polimorfizmi tanımlanmıştır. Bir çalışmada, CC genotipi ile karşılaştırıldığında, T alleli taşıyıcılarında (CT+TT genotipleri) prostat kanseri gelişim riskinin 2 kat arttığı gösterilmiştir. Cip/Kip aile üyesinden biri olan p27KIP1

(CDKN1B) geninin 109.kodonunda T/G değişimi sonucu glisin amino asiti yerine valin amino asiti kodlanmasıyla sonuçlanan bir polimorfizm tanımlanmıştır.VV (çalışmada, CDKN1B geni kesim ürünlerine göre sınıflandırılmış) genotipi ileileri evre prostat kanseri arasındaki ilişki gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise, oral kanserli erkek hastalarda VV genotipinin kanser gelişimi ile bağlantısı belirlenmiştir. Meme kanserli hastalarda GG genotipi ile lenf nodu metastazı arasında ilişki olduğu gösterilmiş ve bu polimorfizmin tümör prognoz belirteci olabileceği önerilmiştir. Bir başka çalışmada ise, CDKN2A, p15INK4B (CDKN2B), CDKN1B genlerinin kontrol bölgelerinde yeni polimorfizmler tanımlanmıştır. CDKN2A -222A, CDKN2B -593A, CDKN1B -1608A varyantları ile çocukluk çağı pre-B akut lenfoblastik lösemi(ALL) gelişimi arasındaki bağlantı gösterilmiştir. Özetle, siklinler, CDK kompleksleri ve CDKI molekülleri, hücre döngüsü, farklılaşma, DNA onarımı ve apoptozis sistemlerinin düzenlenmesiyle ilgili genlerin ifade edilmesini denetlemektedir. Hücre döngüsünün denetim noktalarını oluşturan sistemler, kromozomların doğru düzenlenme ayrılmalarından ve genomun bütünlüğünün sürdürülmesinden sorumlu olduğundan bu sistemlerdeki hatalar kanser hücrelerindeki aneuploidilerin ve genomik kararsızlığın asıl nedeni olabilmekte bu nedenle de tedavide ilaç hedefleri arasında yer almaktadır (65).



Şekil 10. Karsinogenezis’de apoptozis ile ilgili olabilecek genler/proteinler

2.8.2. Farklılaşma ve Polimorfizm

Kanser; hücre çoğalması, farklılaşması ve ölümü arasındaki dengenin bozulmasıyla

oluşur. Hücrede son farklılaşma; hücre döngüsünün durması ve hücreye özgü genlerin ifade edilmesiyle ilgili programının aktivasyonu ile sağlanır. Birbiriyle zıt bir program ilişkisi içinde olan hücresel büyüme ve farklılaşmanın genetik programı bağlaşıktır (65,74). Örneğin kas hücrelerinin oluşması sırasında, çoğalan myoblastlar MyoD genini ifade eder, ancak büyüme faktörlerince zengin ortamda farklılaşma yoktur. Ortamdan büyüme faktörleri uzaklaştırılınca myojenik farklılaşma başlar. p21 ve p16 gibi negatif hücre döngüsü düzenleyicileri MyoD transkripsiyon aktivitesini sağlarken, büyüme faktörlerinin varlığında pozitif düzenleyici siklin D1'in aşırı ifade edilmesi MyoD aktivitesini engeller (65,75). mRNA'sı kesim sonrası beş ekzondan oluşan siklin D1'in, intron kesim bölgesindeki SNP'den dolayı dört ekzondan oluşan polimorfik varyantı siklin D1b, bazı farklı işlevlere sahip olabilmektedir. Siklin D1'in androjen reseptör işlevini etkilediği ve prostat kanserinde epitel hücrelerin transformasyonuna neden olan bazı transkripsiyonel düzenlemelerin ve hücresel çoğalmanın kontrolünü elde tuttuğu gösterilmiştir. Melanokortin-1 reseptörü (MC1R)'in bazı varyantlarının melanozom olgunlaşmasının tamamlanamamasına neden olduğu ve deri kanser riskini artırdığı öne sürülmektedir (65). Yeni hipotezlerle en azından bazı kanserlerin, normal dokulardaki farklılaşmaya benzer şekilde, farklılaşma yeteneğini sürdüren kök hücrelerin neoplastik transformasyonundan oluşabileceği öne sürülmekte ve bu hücreler "kanseri kök hücreleri" olarak isimlendirilmektedir. Buna alternatif bir hipotezle de kanseri kök hücrelerinin, farklılaşması geriye dönmüş (dedifferansiyasyon) ve kök hücre özelliğini yeniden kazanmış hücrelerden ya da asıl kökenden değil farklı embriyonal kökenden gelerek transformasyona uğramış hücrelerden (trans-differansiyasyon) geliştiği öne sürülmektedir (65,76). Kök hücre farklılaşmasının son aşaması, olgunlaşma işleviyle ilgili sürecin son bölümünü kapsar. Farklılaşma tamamlanamamışsa ya da hatalı farklılaşma olmuşsa hücre, apoptozis ile ortadan kaldırılır. Apoptozisin gerçekleşmediği durumlarda ise bu hücrelerin neoplastik dönüşüme uğraması olasılığı vardır. Retinoik asit (RA) ve reseptörleri (RAR), akciğerde hücre çoğalması ve normal epitelyal farklılaşmanın devamlılığı için gereklidir. RA etkisini, asıl olarak çekirdek reseptör gen ailesinin üyeleri - RAR ve retinoid X reseptörleri - aracılığıyla ortaya koyar. RA, insan akut promyelositik lösemi hücrelerinin de terminal farklılaşmasını sağlar ve bu hastalığın tedavisinde kullanılır. RAR, ligand-bağlı transkripsiyon faktörü olarak işlev yapar. RAR'ın birden fazla promotörü kullanabilen ve alternatif intron kesimiyle

oluşturduğu ve her biri farklı genden ifade edilen α , β , and γ izotipleri ve bunların da birkaç izoformları bulunur. Diğer çekirdek reseptörleriyle de heterodimerler oluşturarak DNA'ya bağlanabilirler. Bu sinyal moleküllerindeki çeşitlilik ve bunların DNA'ya bağlandıkları özel hedef bölge polimorfizmleri, denetledikleri genlerin ifade edilmelerinde de rol oynayabilmektedir (65,77). Örneğin RAR genlerinin epigenetik metilasyonla ifade edilmesinin engellenmesi bazı karsinomların oluşmasında etkili olabilmektedir. Bazı çevresel kimyasal maddeler (organoklorürlü kimyasallar, klorürlü pestisitler, poliklorürlü bifenil ve dibenzo bileşikleri), meme kanserinin başlamasında rol oynayabilmektedir. Bu bileşikler hücre farklılaşmasında rolü olan östrojenin özelliklerini taklit etmektedir (65).

2.8.3. DNA Onarımı ve Polimorfizm

DNA onarımında görev alan OGG1, ERCC1, XRCC1, XRCC2, XRCC3, XPC, XPD, XPF, BRCA2, MRE11, NBS1, Ku70/80, LIG4, RAD...vb. genlerin polimorfizmleri, proteinlerin işlevini ve bireylerin hasarlı DNA'yı onarma kapasitesini değiştirebilmektedir. Eksik onarım kapasitesi de genetik kararsızlığa ve dolayısıyla kanser oluşumuna neden olabilmektedir (65,78). Ancak, DNA onarım genlerindeki polimorfizmler tek başlarına kanser risk çeşitliliğini açıklamak için yeterli değildir. Kanserle ilişkili somatik mutasyonların birikimi sadece DNA onarımındaki kusurdan değil, hücre ölüm mekanizmasının hasarlı hücreleri elimine etme yeteneğinin azalmasından da kaynaklanır (65,79). DNA onarımı, genomik kararsızlık ve apoptozis birbirleriyle etkileşen olaylar olduğundan, her biri kanserin patofizyolojisinde çok önemli role sahiptir. Bir çalışmada DNA onarım mekanizmalarından biri olan nükleotit kesme-çıkarma onarımında görev alan XPC (Asp312Asn) ve XPD (Lys751Gln) genlerinin polimorfizmleri ile akciğer kanseri arasında bir ilişki bulunurken, baz kesme-çıkarma ve çift zincir kırıklarının tamirlerinde görev alan XRCC1 (Arg399Gln) ve XRCC3 (Thr241Met) gen polimorfizmleri ile hastalık arasında ilişki bulunmamıştır (65,80). Diğer bir çalışmada, XPD kodon 312 heterozigot ve homozigot A allelinin prostat kanseri için belirteç olabileceği önerilmiştir. Bir başka çalışmada, XRCC1 ve XPD genlerindeki polimorfizmlerin kolorektal kanser ile ilişkili olduğu bulunmuştur. 507 meme kanserli hastada XRCC3 Thr241Met polimorfizmini araştıran bir çalışmada, 241 Met taşıyıcılarında meme kanserine yakalanma riskinde artış olduğu belirlenmiştir.

Yeni tanı almış mesane kanserli 215 hasta ile yapılan bir araştırmada, XPD 156-22541C>A ve 751-35931A>C polimorfizmlerinin mesane kanserinin etiyolojisinde önemli rolü olduğu ortaya konmuştur. Hepatosellüler karsinomlu hastalarda, XRCC1 AG ve GG genotiplerinin homozigot olan AA genotipli hastalara göre, p53 geninin 249. kodonundaki (hot spot) mutasyon frekansında artışa neden olabileceği gösterilmiştir. Diğer bir çalışmada da, XPC 499val alleli taşıyıcılarının, nazofarengeal karsinoma yakalanma riskinde artış olduğu belirlenmiştir. RAD51 135G>C polimorfizminin özellikle 50 yaş altındaki kadınlarda ailesel meme kanseri riskini arttırabileceği saptanmıştır (65). DNA onarım genlerindeki genetik polimorfizmlerin kanser gelişimde etkin rolü olduğu bilinmesine rağmen, bu polimorfizmlerin infertiliteyi de etkileyebileceğine ilişkin bilgiler de vardır.Yapılan bir çalışmada, XPD 751 glutamin allelinin azospermi için risk alleli olduğu ve XRCC1 194 Arg/Arg ve 399 Arg/Arg genotipleri ile beraber değerlendirildiğinde de azospermiyi 5.100 - 3.064 kat arttırdığı belirlenmiştir (65,81).

2.8.4. Apoptozis ve Polimorfizm

Programlı hücre ölümü olan “apoptozis”,hem hücresel homeostazisin devamlılığı hem de hücre çoğalması ve farklılaşmasında çok önemli olan hücre eliminasyonu için gerekli fizyolojik bir işlemdir. Apoptozis, nekrozis, otofaji, anoikis ve mitotik katastrof gibi programlı veya indüklenen hücre ölümleri tanımlanmış olmasına rağmen, ilerinde sistematik olarak en çok ve en iyi çalışılanı, apoptozisin moleküler işlergesi olmuştur. Apoptozis, genetik işlergelerle düzenlenmekte ve malign hücrelerde bu işlergelerin denetimi bozulabilmektedir. Bu da kontrolsüz hücre büyümesine ve tümör gelişimine neden olmaktadır. Apoptotik işlergelerde rolü olan pro-apoptotik ve antiapoptotik genlerin klonlanmış olmasına ve apoptotik yolaktaki olası fonksiyonlarının araştırılmasına rağmen bu genlerin önemi ve kanser gelişimindeki ürünleri halen tam olarak ortaya konamamıştır (65,82). Apoptozis; iyonlar (Ca²⁺), moleküller (seramid), genler (c-myc), proteinler (p53) hatta organeller (mitokondri) gibi çok sayıda aracıyla düzenlenir. Normal hücre ve tümör hücresi arasındaki gen ve protein ifade edilmesindeki artış veya azalışların (ifade farklılıklarının), tümörün başlangıç aşamasında mı yoksa ilerleyen evrelerinde mi gerekliliği halen bilinmemektedir. Apoptozisin azalması tümörigenezis ile ilişkilendirildiği için, apoptozisin negatif

düzenleyici genlerinin onkogenik potansiyeli olabileceği, pozitif düzenleyici genlerinin de tümör baskılayıcı genler gibi davranabileceği öngörülmektedir. Birçok tümörde anti-apoptotik proteinler, yüksek düzeyde pro-apoptotik moleküllerle beraber bulunur (aktif kaspaz-3 ve kaspaz-7 gibi) (65,83). İlk bakışta çelişkili görünen bu durum 30'dan fazla proteini içeren ve bir kısmı apoptozisi indükleyen bir kısmı da baskılayan Bcl-2 ailesi ile açıklanabilir. Bu ailenin üyeleri kendi aralarında homo veya hetero-dimerler oluştururlar. Hücrenin sağkalım durumu bu ailenin pro-apoptotik ve anti-apoptotik üyelerinin göreceli oranına bağlıdır. Bu heterodimerlerden biri olan Bcl-2/Bax'ın birbirine oranının bazı hematolojik malignansilerde prognostik değer taşıdığı rapor edilmiştir (65,84). Bu oranın azalması apoptozisin aktivasyonu, artması ise apoptozisin inhibisyonu ile sonuçlanmaktadır. p53 geninin Pro72 polimorfizmi, apoptozisilişkili SNP'dir. Ancak, karsinogenezisde apoptozis ile ilgili olabileceği düşünülen genler/proteinler de vardır (Şekil 10). Tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), en çok çalışılan ve bazı önemli kanser tipleri ile ilişkili olduğu belirlenen sitokinlerden biridir (65). FAS, TNFRSF6/CD95/APO-1 olarak bilinen apoptotik sinyal yolağında yer alan hücre yüzey reseptörü, promotör bölgesinde yer alan SNP'lerin kanser duyarlılığında rolü olabileceği belirtilmiştir. FAS -1377 G/A, -670A/G ve FAS ligand (FASL) -844T/C polimorfizmleri bu genlerdeki transkripsiyonel aktiviteyi değiştirebilmektedir. Ölüm yolağındaki FAS ve FASL genlerindeki polimorfizmlerin özefagus skuamöz kanseri geliştirme riskini arttırdığı gösterilmiştir (65,85). p73 geni, p53 geninin hücre döngüsü kontrolü, apoptozis ve hücre büyümesi gibi sahip olduğu fonksiyonları düzenleyebilir. Ekzonların bilinen kodlayıcı bölgelerinin dışında, 5'ucunda ribozoma bağlanma işlevinden sorumlu ve 3' ucunda da poliA kuyruğunun eklenmesinde rolü olan kodlayıcı olmayan (untranslated bölgeleri (UTR)) bulunabilmektedir. p73 genindeki bağlantı gösteren ve kodlayıcı olmayan 2.ekzonda bulunan G4C14-A4T14 polimorfizmleri baş-boyun skuamöz kanserlerinde genetik belirteç olabileceği belirtilmiştir (65). Tümör nekrozis faktör, apoptozis ile ilişkili- ölüm reseptörü 4 (DR4) ve 5'e bağlanarak dışarıdan apoptotik yolağı uyaran ligandı uyarır. APO2L/TRAIL, dışarıdan apoptotik yolağı uyaran, TNFreseptör gen süper ailesinin alt grubu olan bir ailedir. APO2L/TRAIL, ikisi proapoptotik reseptörler [(DR4 veya APO2L/TRAIL R1), TRAIL-reseptör 2 (APO2L/TRAIL-R2, DR5, KILLER/DR5)], diğer ikisi de (TRID ve DcR2) tuzak reseptörler- hücre ölümünü indükleyemeyen- olmak üzere dört farklı

hücre yüzey reseptörlerine eşit eğilimli olarak bağlanır. APO2L/TRAIL ile indüklenen hücre ölümü, reseptör ifadenmesi ve bağlanması ile sınırlıdır. Bir çalışmada, DR4 ekzon 4 G/G genotipinin mesane kanseri riskini azalabileceği öne sürülmektedir (65,86). Hematolojik ve sindirim yolundaki kanserlerde kaspaz- 8, kaspaz-10 ve DR4 genlerinde mutasyonlar rapor edilmesine rağmen, kanser ile ilişkilendirilen bu apoptotik genlerdeki SNP'ler ile ilgili çalışma daha azdır. Bu çalışmalardan birinde kaspaz-8 polimorfizminin meme kanseri yatkınlığına karşı koruyucu etkisi olduğu rapor edilmiştir (65,87). DNA onarım ve polimorfizmi kısmında bahsettiğimiz, XPD'deki polimorfik değişim ilk başlarda DNA onarım çalışmalarına dahil edilip araştırılmıştır. Ancak, kodon 3122 deki Asp/Asn (GAT/AAT) polimorfizmi, AAT homozigotları ultraviyole ile uyarılan apoptozisdeki artış ile karakterize edildiğinden, bu DNA onarım enzimideki polimorfizm, apoptotik yolakla da ilişkilendirilmiştir. Hücre ölüm genlerinin kodlanan bölgelerinde belirlenmiş SNP'lerin sayısının, kodlanmayan bölge ve henüz onaylanmamış gen polimorfizmleri ile artış göstereceği öngörülmektedir (65,79). Çünkü, hastalıklardaki fonksiyonel anlamlılıkla ilişkilendirilmiş SNP'lerle ilgili bilgimiz, gelecekteki çok sayıda olgu-kontrol gruplarını içeren çalışmalarda uygun polimorfik aday genlerin seçiminde yol gösterici olabilecektir (65).

2.8.5. Metastaz ve Polimorfizm

Transformasyona uğramış hücrelerin metastatik potansiyeli bölgesel mikroçevreden, anjiyogenezisten, stroma-tümör ilişkisinden ve bulunduğu bölgesel dokunun sitokin içeriğinden etkilenebilmektedir. İnvazyon ve anjiyogenezis, erken olaylar olarak benzersinyal programlarını kullanırlar. Metastazın evreleri, birincil tümör kitlesinden koparak ayrılma, bazal membrandan ve intersitisiyal bağ dokudan geçerek invazyon, damara giriş ve dolaşıma katılma, endotel bazal membrana tutunma ve damardan çıkış, uzak dokularda çoğalma olarak özetlenebilir (65,100). Solid tümör büyümesi ve metastaz gelişiminde, yeni kan damarlarının oluşumu gereklidir. Yeni damarların oluşumunun birçok düzenleyicisi vardır. Anjiyogenik düzenleyiciler içerisinde en önemlisi ve üzerinde en çok durulanı vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)'dür. VEGF,hipoksik veya iskemik koşullardaki hücrelerden salınarak anjiyogenezisi uyarır. VEGF geninin birçok polimorfizmi tanımlanmıştır. VEGF geninin ifade edilmesinin hatalı düzenlenmesi, başlıca tümör büyümesi ve metastazı, romatoid artrit ve diabetik

retinopati gibi çeşitli hastalık patolojileri ile ilişkilendirilmiştir. Bir diğer anjiyogenik düzenleyici, anjiyopöietin (ANGPT) ailesidir. Anjiyopöietin ailesi vasküler gelişimde, anjiyogenezisde ve özellikle kadın üreme sisteminde çok önemli ve kritik roller üstlenmektedir. Anjiyogenik düzenleyicilerin polimorfizmlerinin tümörün gelişim ve dağılım hızını etkileyebilecek potansiyelinin olması bizi bu yeni çalışma alanına sürüklemiştir (65,90). Önceki yapmış olduğumuz bir çalışma da VEGF -460, 936 ve ANGPT-2 polimorfizmlerle over, serviks ve endometriyum kanserleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (65,91). Bir başka çalışmamızda, -460 C/T polimorfizmi ile sporadik prostat kanseri arasında anlamlı bir ilişki de belirlenmemiştir (65,92). İnsanlardaki tümörlerde yüksek düzeyde bulunan hipoksiyle indüklenen faktör-1 alfa (HIF-1 α)'nın anaerobik enerji metabolizmasını, anjiyogenezisi, hücrelerin devamlılığını ve ilaca karşı dirençte rol oynayan hedef genleri düzenleyerek tümör gelişiminde önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Tümör hücresinin hipoksik koşullara adaptasyonunda en önemli faktörlerden biri olan bu transkripsiyon faktörü ile yaptığımız çalışmada, HIF-1 α C1772T polimorfizminin servikal ve endometriyal kanserle ilişkili olabileceğini saptadık. Tümör oluşumundan asıl olarak onkogenler, tümör baskılayan genler ve genomun kararlılığında önemli rol üstlenen genlerdeki değişiklikler sorumludur (65). Metastazla ilgili genler basitçe, metastazı baskılayanlar ve metastazı destekleyenler olarak gruplandırılabilir. İlk belirlenenlerden birkaçı metastazı aktive eden ras onkogenini baskılayan E1A, metastazı baskılayan matriks metalloproteinaz (MMP) inhibitörleri TIMP1 ve 2, yine metastazı baskılayan nm23, KiSS-1'dir. Nm23 (Nm, non-metastatik) mikrotubul polimerizasyonunda ve hücre içi sinyal iletiminde rolü olan bir nükleozid difosfo kinazdır. Nm23'ün, melanom, meme, kolon gibi çoğu kanser metastazındaki rolü belirlenmiştir (65,93). Ayrıca prostat ve over kanserlerinde MKK4, yine prostat ve memede KAI1, meme ve melanomda BRMS1, idrar kesesi kanserinde RhoGD1 ve melanomda CRSP3 metastazda tanımlanan genlerdendir (65,88). Ekstrasellüler matriksi parçalayarak bazı tümörlerin invazyonu ve metastazında rol oynayabilen MMP varyasyonları, MMP miktarı ve aktivitesini dolayısıyla da metastaz riskini arttırabilmektedir. Örneğin MMP-3 promotör bölgesinde 5A polimorfizmi, daha invaziv meme kanser riskiyle bağlantılıdır. MMP-7 181G promotör polimorfizminin kolorektal kanser invazyon ve metastazında etkili olduğu gösterilmiştir. Plazminojen aktivasyon inhibitörü (PAI-1) -675 4G5G polimorfik geninin meme kanserinin

prognozunda belirteç olarak yardımcı olabileceği önerilmektedir (65,94).

Vitamin D ve aktif metaboliti 1,25-dihidroksivitamin D3 1,25(OH)2D3 hücre büyümesi ve farklılaşmasının iyi bilinen düzenleyicilerinden biridir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, vitamin D'nin kemik ve kalsiyum metabolizmasının kontrolünün yanısıra, immun cevap oluşumu, metastaz, anjiyogenez ve apoptozis gibi birçok biyolojik süreçle ilişkisi gösterilmiştir. Ayrıca 1,25(OH)2D3'ün, sitokrom P450 aile üyesi olan oksidatif enzimlerin ifade edilmesini de uyardığı bilinmektedir. Vitamin D etkisini çekirdek reseptör gen ailesinin bir üyesi olan vitamin D reseptörü (VDR) ile etkileşerek gösterir. VDR'nin etnik gruplar ve ırklar arasında farklılık gösteren çeşitli allel varyantları tanımlanmıştır. Bu polimorfizmler ile farklı kanserlerin gelişimi ve metastazı arasında ilişki gösterilmiştir. Bu bulgulardan yola çıkarak, Türk Toplumunda, VDR geninde daha önce tanımlanmış olan 8. İntrondaki *BsmI131* ve *ApaI132* ve 9. ekzondaki *TaqI133* polimorfizmleri ile sporadik prostat kanserinin gelişimi arasındaki ilişkiyi belirlemek için yapılan çalışmada, *ApaI* "a" allelinin risk faktörü olabileceği bulunmuştur (65,95).

Genetik polimorfizmler, tıpta bazı hastalıklara karşı duyarlılıkta kişisel farklılıkları belirlememizi sağlar. Bazı gen polimorfizmleri (alleller) bir hastalık riskini arttırırken bazıları azaltabilmekte (koruyucu allel), bazı polimorfik alleller ise yalnızca çevresel bir faktörün etkisi altındayken riski etkileyebilmektedir. Örneğin, kalıtsal kanserlerde bazı genetik faktörler riski arttırırken, kalıtsal olmayan (sporadik) kanserlerde çevresel faktörler daha belirleyici olabilmektedir. Çünkü çevredeki bir risk faktörü bir ya da daha fazla genin ifade edilmesini etkileyerek, ya da bir polimorfik gen ürünü bir çevresel faktörün etkisini değiştirerek kansere neden olabilmektedir. Kanser gelişiminde genlerin ve varyasyonlarının, çevresel risk faktörleriyle birlikte etkisi, tek tek göstermiş oldukları etkinin toplamından daha fazla olabilmektedir. Kanser gelişimi ya da kansere yatkınlıkla ilgili genlerin ve polimorfizmlerin bilinmesi, hiç şüphesiz pek çok kanserin erken tanısı ve tedavisinde yararlı olabilecektir (65).

2.9. APOPTOZİS

2.9.1. Apoptozis Tanımı

Apoptozis kavramının belirli komponentleri acıkça çok önceden tanımlanmış olmasına rağmen, apoptozis terimi (a-po-toe-sis) ilk olarak Kerr, Wyllie ve Currie tarafından

1972’de, hücre ölümünün morfolojik bir formunu tanımlamak için klasik bir yazıda kullanılmıştır (96,97). Programlanmış hücre süreci ya da apoptozis genel olarak belirli morfolojik özellikler ile karakterize edilen, enerji bağımlı biyokimyasal bir mekanizmadır. Apoptozis normal hücre turnover’i, normal gelişim, immun sistem fonksiyonu, hormon bağımlı atrofi, embriyonik gelişim ve kimyasal olarak uyarılmış hücre ölümünü içeren çeşitli işlemlerin hayati komponenti olarak göz önünde bulundurulmaktadır. Uygun olmayan apoptozis (çok az/fazla) nörodejeneratif hastalıklar, iskemik zarar, otoimmun rahatsızlıklar ve birçok kanser tipini kapsayan bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır (96,98). Memeli hücrelerindeki apoptozis işleminin kapsadığı mekanizmalar *C. elegans* nematodunun gelişim suresince meydana gelen programlanmış hücre ölümü mekanizmalarını kapsamaktadır. Bu organizmada erişkin kurdun oluşumu için 1090 somatik hücre gereklidir, bu hücrelerin 131’i apoptozis ya da programlanmış hücre ölümünü geçirir. Bu hücreler, bu sistem içerisinde dikkate değer bir uygunluk ve kontrol altında, kurtlar arasında temel olarak değişmeyen gelişim sürecince farklı noktalarda ölürler. Apoptozis bu yüzden hücrelerin genetik olarak belirlenmiş eliminasyonunu içeren programlanmış hücre ölümünün önemli ve ayırt edici bir modu olarak tanımlanır ve kabul edilir. Bununla beraber programlanmış hücre ölümünün tanımlanmış olan ve henüz keşfedilmemiş olan diğer formlarının da göz önünde bulundurulması önem arz etmektedir (96,99). Apoptozis normal olarak gelişim, yaşlanma ve dokulardaki hücrelerin devamını sağlamak için bir homeostatik mekanizma olarak karşımıza çıkabileceği gibi, aynı zamanda hastalık ya da zararlı ajanlar tarafından hücreler zarar gördüğünde ya da immun reaksiyonlar gibi bir savunma mekanizması olarak da oluşabilir (96). Normal dokularda hücrelerin, dokunun genel fonksiyonları etkilenmedikçe hızlı bir şekilde elimine edilmesine gerek yoktur. Bu süreçte hücreler programlanmış hücre ölümü olarak adlandırılan aktif ve spontan intiharlar üstlenir. Gerçekte, fizyolojik hücrelerin çoğunluğu apoptozis formunu alır. Nekroze zıt olarak apoptozis bir hücrenin aktif olarak belirli uyarıcıları alması ile ölüme doğru izlediği yolu gösterir (100). Hücrenin apoptoz veya nekroza gidip gitmeyeceği uyarıcı tipi ve/veya uyarıcı derecesi ile belirlenir. Sıcaklık, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik antikanser ilaçları gibi çeşitli zararlı uyarılar düşük dozlarda apoptozisi indükleyebilir fakat bu benzer uyarılar yüksek dozlarda nekroze neden olabilir. Sonuç olarak apoptozis kaspazlar olarak adlandırılan bir grup sistein proteazların aktivasyonunu ve

hücrelerdeki başlangıç uyarılarına bağlı kompleks ve koordine edilmiş kaskat olaylarını kapsayan çoğunlukla enerji bağımlı bir süreçtir (98). Bu süreç belirli fazları içeren basamaklardan oluşur.

2.9.2. Apoptotik Ölüm Basamakları

Apoptotik hücre ölümü başlama fazı, sinyal fazı, idam fazı ve gömme/defin fazı basamaklarından oluşur.

Başlama (Tetikleme) Fazı: Apoptotik hücre ölümünün başlangıç aşamasıdır. Bu aşamada rol alan çeşitli moleküller belirlenmiştir. Fas ligant (FasL) ve tümör nekrozis faktör-a (TNF-a), apoptozisin prototipik indükleyicileridir. Bu ligantlar belirli reseptör kümelerini indükler (Fas, TNFRI ya da TNFR II), bu da başlangıçtaki sinyal iletim moleküllerinin aktivasyonuna neden olur. Fas/FasL sistemi en iyi çalışılmış reseptör aracılı apoptotik yoldur. Bir sistince zengin ekstrasellülerdomainli tipI transmembran proteini olan Fas/Apo- 1/CD95'de tümör nekrozis faktör reseptör (TNFR) süper ailesinin bir üyesidir (96,101).

Sinyal Fazı: Apoptozis süreci boyunca sinyal iletim mekanizması önemli yer tutmaktadır. Bu faz, çeşitli kinazların rol aldığı protein kinaz kaskatından oluşmaktadır. Apoptoziste anahtar rol oynadığı öne sürülen protein kinazların çoğu serin/threonin tipindedir. Mitojenle uyarılmış protein kinaz (MAPK) ailesinden özellikle p42/44 ERK, p38 MAPK ile c-Jun N-terminal kinaz (JNK), siklik AMP-bağımlı protein kinaz A (PKA), protein kinaz B (PKB), Aktive proteinkinaz C (PKC)'de bu basamakta rol alan kinazlardandır (102).

İnfaz Fazı: Apoptozis sürecinde hücre ölüm kararının alındığı basamaktır. Bu basamakta rol alan, kaspazlar olarak bilinen hücre ölüm proteazları, farklı türlerdeki apoptotik programların integral komponentleridir (96). Başlangıçta inaktif prekürsörler (zimojen) olarak sentezlenen kaspazlar, aktif enzimi oluşturan proteolitik süreçler tarafından aktive edilirler. Bazı hastalarda Nterminal “pro-domain” daha sonra otokataliz ile uzaklaştırılır. Hayvanlar alemindeki apoptotik program süresince kaspazların fonksiyonel korunumu hücre ölüm kararını etkilemek için onları olası

hedefler yapar. Memeli hücrelerinde, kaspazların aktivasyonu, farklı kaspazlar tarafından başlatılan en az iki bağımsız mekanizma vasıtasıyla başarılabilir, fakat genel olarak cellat kaspazların aktivasyonuna yol acar. Örneğin, sitokin reseptörlerinin TNF ailesinin çeşitli üyeleri, kaspaz-8'in sistolik domainlerini sitokin ligantlarına bağlar, bu da proksimal kaspazın proteolitik aktivasyonuna neden olur (103). Kaspaz-8, bir kez aktive edildiğinde indirekt ya da direkt olarak kaspaz-3, -6 ve -7'nin (CD95 tip I hücreler) bir grubunun aktivasyonunu indükleyebilir (96,104). Kaspaz aktivasyonunun diğer bir yolu apoptozis süresince (CD95 tip II hücreleri) memeli hücrelerinde mitokondriden sitozole sitokrom c'nin sık sık salınmasıdır (105). Ölüm reseptör sinyali Bcl-2 inhibe edici yola bağlanır. Proapoptotik düzenleyicilerin "BH3-only" ailesine ait olan ve BCL-2 ailesinin bir üyesi olan BID (BCL-2 etkileşim domaini) aktif kaspaz-8 tarafından parçalanarak Bax'ın hedef mitokondrinin membranı ile oligomerizasyonuna ve sitokrom c salınımına neden olmaktadır. Serbest bırakılan sitokrom-c bir sistosolik protein olan Apaf-1'e bağlanır. Bu Apaf-1 oligomerizasyonunu, Apaf-1 "apoptozom" alınımını ve prokaspaz-9'un aktivasyonunu indükler. Aktif olan kaspaz-9 daha sonra apoptotik ölümü düzenleyen hücrelerde anahtar substrat rolü oynayan infaz prokaspaz-3'u aktive eder (106).

Gömme (Defin) Fazı: Bu basamak apoptotik cisimciklerin, onu çevreleyen parenkimal hücreler ya da fagositler tarafından fagosite edilerek ortadan kaldırılması işlemlerini kapsamaktadır.

2.9.3. Apoptozisin mekanizması

Apoptozis mekanizması oldukça kompleks ve karmaşık enerji bağımlı moleküler kaskat olaylarını içermektedir. Yapılan araştırmalar ekstrensek ve intrinsek ya da mitokondrial yol olarak iki ana apoptotik yolunun olduğunu, bu iki yolun birbiri ile bağlantılı olduğu ve biryolda rol alan moleküllerin diğer yoldakini etkilediğini göstermiştir (96). Bu iki yola ilave olarak T-hücre aracılı sitotoksisiteyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünü içeren bir yol daha vardır (107). Apoptozisin birçok irritasyon ajanları tarafından çeşitli hücrelerde indüklendiği, fakat kesin mekanizmanın hala açık olmadığı bildirilmiştir. Hücre yaralanmaları, TNF reseptörü, Fas reseptörü (öldürücü sinyal reseptörü olarak adlandırılan) ve IL-3 ve eritropoetin gibi sinyallerin devamlılığını

sağlayan sitokinlerin yokluğunun aracılık ettiği radyasyon ve anti kanser ilaçlar gibi DNA hasarına neden olan ajanlar tarafından apoptozis indüklenir. Tümör süpressör geni p53, DNA hasarı ile indüklenen apoptoziste çok önemli bir rol oynar ve bunlar p53 knockout farenden elde edilen hücreler ile yapılan apoptozise direnç çalışmaları ile gösterilmiştir (108).

Ekstresek Yol: Apoptozisi transmembran reseptör aracılı etkileşimlerle başlatan yol ekstresek ya da ölü reseptör yoludur. Bu sinyal yolunda TNF reseptör gen süper ailesinin üyeleri olan ölüm reseptörlerini içeren transmembran reseptörleri rol almaktadır. TNF reseptör ailelerinin üyeleri birbirine benzer sistince zengin ekstrasellüler domainler içerir ve öldürücü domain olarak adlandırılan yaklaşık 80 aminoasitlik bir sitoplazmik domaine sahiptirler (109). Bu domainler hücre yüzeyinden hücre içi sinyal yoluna öldürücü sinyalin aktarılmasında kritik bir rol oynarlar. Ligand ve onların karşılığı olan öldürücü reseptörler FasL/FasR, TNF- α /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/ DR4 ve Apo2L/DR5'i içermektedir (110). Apoptozisin ekstresek fazını tanımlayan olayların oluş sırası en iyi şekilde FasL/FasR ve TNF- α /TNFR1 modelleri ile karakterize edilir. Bu modellerde, reseptörler ve homolog trimerik ligandların bağlandığı kümeler vardır. Ligant bağlandığında, sitoplazmik adaptör proteinler reseptörlere bağlanan uygun öldürücü domainlerin oluşumunu göstermektedir. Fas ligantının Fas reseptörüne bağlanması, Fas reseptörünün Fas ilişkili ölüm domainine (FADD) bağlanmasına, TNF ligantının TNF reseptörüne bağlanması ise FADD ve reseptör interaktif protein (RIP) birimleri ile adaptör TNFR-1 ilişkili ölüm domaini (TRADD) proteininin bağlanmasına yol açar (111). FADD daha sonra öldürücü efektör domaininin dimerizasyonu aracılığı ile prokaspaz 8 ile birleşir. Bu noktada bir öldürücü sinyal kompleksi (DISC) oluşurak bu prokaspaz 8'in oto katalitik aktivasyonuna yol açar. Kaspaz-8 bir kez aktive olunca, apoptozisin uygulama fazı tetiklenir. Öldürücü reseptör aracılı apoptozis, FADD ve kaspaz-8'e bağlanacak olan c-FLIP olarak adlandırılan bir protein tarafından inhibe edilir (105,112).

Perforin/granzim Yolu: Perforin/granzim yolu granzim B ya da granzim A ile apoptozisi indükleyebilir. Ekstresek, intrensek ve granzim B yolu aynı uçta ya da infaz yolunda odaklanabilir. Bu yol kaspaz-3'ün parçalanması ile başlatılabilir ve DNA'nın

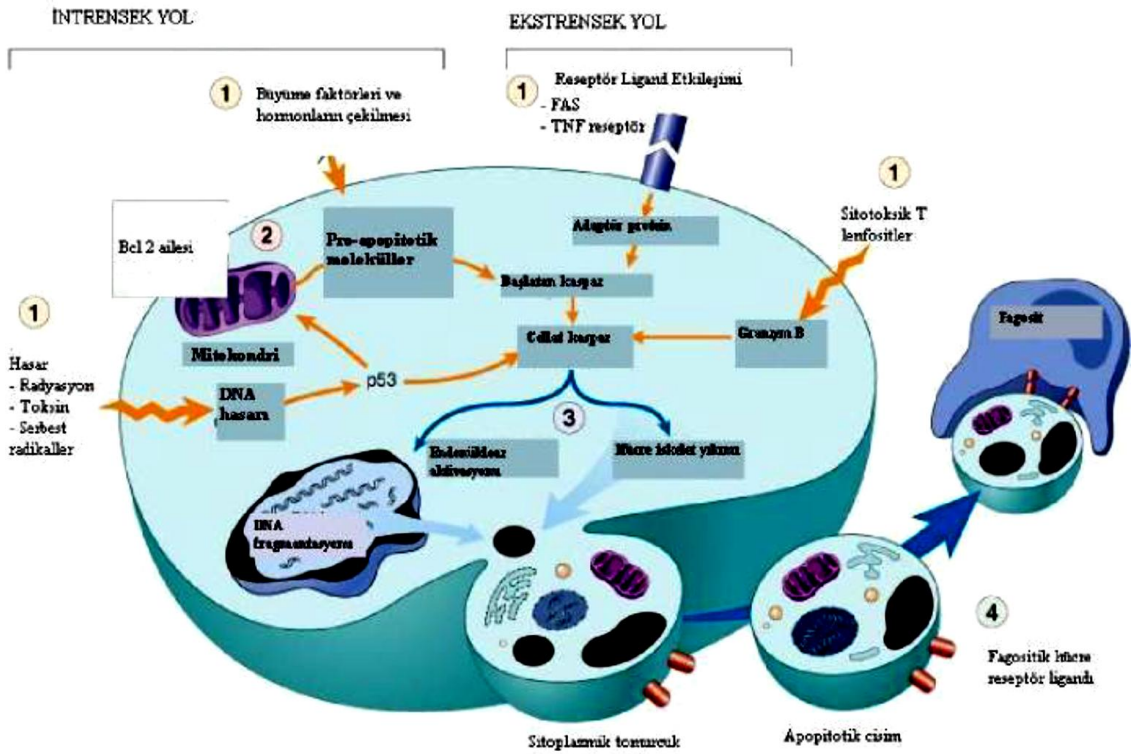
fragmantasyonunu, hücre iskeleti ve çekirdek proteinlerinin parçalanmasını, proteinlerin çapraz bağlanmasını, apoptotik yapıların oluşumunu, fagositik hücre reseptörleri için ligantların ekspresyonunu ve sonuç olarak fagositikhücreler tarafından yutulma basamaklarını içermektedir. Granzim A yolu tek iplikli DNA hasarı aracılığıyla paralel olan, kaspaz bağımlı hücre ölüm yolunu aktive eder (107). Sitotoksik T lenfositler (CTLs) konakçı hücre yüzeyindeki antijenleri tanırlar ve bu sırada yüzeylerinde Fas ligant oluşturarak hedef hücrenin Fas reseptörüne tutunurlar. CTL'ler sitoplazmalarında granzim B (serin proteaz) ve perforin adı verilen, apoptozisin oluşmasını sağlayan proteinler içeren sitoplazmik granüllere sahiptirler. Bu CTL'ler, perforin ile porlar oluşturarak hedef hücrelerde kaspazları aktive edecek olan granzim B salgırlar ve böylece perforinin salınımını içeren yeni bir yol aracılığı ile tümör hücresi ve virus tarafından enfekte edilmiş hücre üzerinde sitotoksik etkilerini uygulayabilirler. Granzim A'da aynı zamanda apoptozisi uyaran ve kaspaz bağımsız yolu aktive eden sitotoksik T hücrelerinde de önemlidir. Hücrede bir kez granzim A, DNAaz NM23-H1 aracılığı ile DNA nicking'i aktive ettiğinde bir tümör supressör gen üretilir. Nükleozomda toplanan endoplazmik retikulum ilişkili (SET) proteinler, normal olarak NM23-H1 genini inhibe eder. Granzim A proteaz SET kompleksini parçalar böylece NM23-H1'in inhibisyonunu serbest bırakır bu da apoptotik DNA parçalanmasına yol açar (96).

İntrensek Yol: Doğrudan hücre içi reseptörlere etki eden reseptörlerden bağımsız olarak uyarının farklı bir düzenini içeren yola intrinsek ya da mitokondrial yol adı verilmektedir. Apoptozisi başlatan intrinsek sinyal yolu; mitokondrial başlatıcı olaylar olan, hücre içerisindeki hedeflerle direkt etkileşimde olan ve hücre içi sinyaller üreten, reseptör olmayan uyarıların aracılık ettiği bir dizi olayları içermektedir. İntrensek yolu başlatan uyarıcı, pozitif ya da negatif biçimde rol alabilir. Negatif sinyaller, ölüm programının baskılanmasının başarısız olmasına nedenolabilecek olan belirli büyüme faktörleri, hormonlar ve sitokinlerin olmadığı durumları içerir ve apoptozisi tetikler. Radyasyon, toksinler, hipoksi, hipertermi, viral enfeksiyonlar ve serbest radikaller gibi diğer uyarımlar pozitif sinyaller olarak rol almaktadır. Bu uyarımların tamamı mitokondrial permeabilite geçiş poru (MPT)'nin açılmasına, mitokondrial transmembran potansiyeli ve sitozolun iç membran boşluğundan normal olarak izole edilmiş proapoptotik proteinlerin iki ana grubunun salınımına yol açan iç mitokondrial

membranda değişikliklere neden olabilir (113). İlk grup sitokrom c, Smac/DIABLO, ve serin proteaz HtrA2/Omi'den oluşur. Sitokrom c bir apoptozom oluşturan prokaspaz-9'a ilave olarak Apaf-1'i aktive eder ve bağlar. Bu şekilde prokaspaz-9'un kümeleşmesi kaspaz 9 aktivasyonuna yol açar. Apoptozis protein inhibitörleri (IAP) (inhibitors of apoptosis proteins) aktivitesi ile Smac/DIABLO ve HtrA2/Omi'nin apoptozisi ilerlettiği açıklanmıştır (96). Proapoptotik proteinlerin ikinci grubu, apoptozis süresince mitokondrilerden salınan AIF, endonükleaz G ve CAD'dır ancak bu hücrenin ölümünden sonra oluşan bir olaydır. AIF çekirdeğe transloke edilir ve DNA'nın 50-300kb'lik parçalara bölünmesine ve periferel çekirdek kromatinininkondensasyonuna yol açar (114). Proteinlerden Bcl-2 ailesi mitokondrial membran geçirgenliğini kontrol eder ve pro-apoptotik ya da anti apoptotiklerin her ikisinde olabilir. Şu ana kadar Bcl-2 ailesinden total 25 tane gen tanımlanmıştır. Anti apoptotik proteinlerden bazıları Bcl-2, Bcl-x, Bcl-XL, Bcl-XS, Bclw, BAG'ı içerirken pro-apoptotik proteinlerden bazıları Bcl-10, Bax, Bak, Bid, Bad, Bim, Bik ve Blk'i içerir. Bu proteinler özel öneme sahiptirler, çünkü onlar apoptozisi başlatabilir ya da sonlandırabilir. Proteinlerden Bcl-2 ailesinin aktivasyonunun ana mekanizması, mitokondrial membran geçirgenliğinin değişimi ile mitokondriden serbest bırakılan sitokrom c'nin düzenlenmesidir. (115). İlave olarak Bcl- XI ve Apaf-1de gösterilen bir protein "Aven" in her ikisini bağlayarak prokaspaz-9'un aktivasyonunu önlediği belirlenmiştir. Puma ve Noxa, Bcl-2 ailesinin iki üyesidir ve bunlar pro-apoptozis mekanizmasında da rol alırlar. Puma p-53 aracılı apoptoziste önemli bir rol oynar. Noxa'da aynı zamanda p53 tarafından indüklenmiş apoptozis için aday bir araçtır. Çalışmalar, bu proteinin mitokondriye lokalize olabileceğini ve kaspaz-9'un aktivasyonuna yol açan antiapoptotik Bcl-2 ailesi ile etkileşime girebileceğini göstermiştir. Puma ve Noxa'nın her ikisinin de p53 tarafından indüklenmesi nedeniyle, bunlar geno-toksik hasar ya da onkogen aktivasyonu ile oluşan apoptozise aracılık edebilirler. Miyelositomatozis onkogen (Myc) onkoproteininin de aynı zamanda p53 bağımlı ve bağımsız mekanizmanın her ikisinde de apoptozisi artırma yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (96,116).

İnfaz Yolu: İnfaz yolu ekstrinsik ve intrinsik yolun her ikisinin sonunda yer alan apoptozisin sonuncu yoludur. Apoptozisin bu yolunun başlaması infazcı kaspazlarının aktivasyonu ile gerçekleştirilir. İnfazcı kaspazlar çekirdek materyalini parçalayan

sitoplazmik endonükleaz ile çekirdek ve hücre iskeleti proteinlerini parçalayan proteazları aktive eder. Effektör ya da cellat kaspazlar olarak fonksiyon gören Kaspaz-3, Kaspaz-6, ve Kaspaz-7; sitokeratinler, Poli ADP riboz polimeraz (PARP), plazma membran hücre iskelet proteini alfa fodrin, çekirdek proteini NuMA ve diğer proteinleri içeren çeşitli substratları parçalar ve bu da apoptotik hücrelerde görülen morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olur (117). Kaspaz-3 en önemli cellat kaspaz olarak bilinir ve başlatıcı kaspazların (kaspaz-8, kaspaz-9 ya da kaspaz-10) herhangi biri ile aktive edilir. Kaspaz-3 spesifik olarak endonükleaz CAD'ı aktive eder. Çoğalan hücrelerde CAD inhibitörü olan ICAD ile kompleks oluşturur. Apoptotik hücrelerde, aktive edilmiş kaspaz-3, ICAD'ı parçalar ve CAD'ı serbest bırakır. CAD daha sonra çekirdek içerisindeki kromozomal DNA'yı parçalar ve kromatinin yoğunlaşmasına neden olur. Kaspaz-3 aynı zamanda hücre iskeletinin yeniden organizasyonunu ve apoptotik yapılar içerisinde hücrenin parçalanmasını da indükler. Protein bağlayıcı bir aktin olan gelsolin, aktive edilmiş kaspaz-3'un anahtar substratlarından biri olarak tanımlanmıştır. Kaspaz-3 sırasıyla gelsolin ve gelsolin parçalarını ve kalsiyum bağımsız bir şekilde aktin filamanlarını parçalayacaktır. Bu hücre iskeletinin bozulmasına, hücre içi transporta, hücre bölünmesi ve sinyal iletimine yol açacaktır. Apoptotik hücrelerin fagositik alınımı apoptozisin en son komponentidir. Fosfolipit asimetrisi ve fosfatidil serinin apoptotik hücreler ve onların fragmentlerinin yüzeyine eksternalizasyonu bu fazın tanımlayıcı bir karakteristiğidir (96,118).



Şekil 11. Apoptozun mekanizması

(Kumar V, Abbas A, Fausto N. Cellular Adaptations, Cell Injury and Cell Death. In: Kumar V., Abbas A., Fausto N., eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. Elsevier Philadelphia, 2005;7th ed:26-32).

2.9.4. Apoptozisin Farklı Formları

Apoptozis genel anlamda bir organizmanın oluşumu ve homeostazisin devamlılığı için gerekli olan “Fizyolojik Apoptozis” ve patolojik durumlarda işleme konulan “Patolojik Apoptozis” olarak 2 gruba ayrılabilir.

Fizyolojik Apoptozis: Normal fizyolojideki apoptozisin rolü, karşıtı olan mitozis kadar önemlidir ve çeşitli hücre popülasyonunun düzenlenmesinde mitozise zıt rol oynamaktadır. Organogenez sırasında dokuların yıkılarak yeniden yapılması sırasında fizyolojik apoptozis önemli yer tutar. Erişkin bir insan vücudunda homeostazisin devamlılığı gereklidir ve apoptozis tarafından gerçekleştirilen bu ölümleri dengelemek için her gün yaklaşık olarak 10 milyar hücre yapılır (119). Bu sayı normal gelişim, yaşlanma ve hastalık süresince apoptozisin artmasına bağlı olarak önemli derecede artabilir. Apoptozis çeşitli gelişim basamakları süresince kritik öneme sahiptir. Örnek olarak sinir sistemi ve immün sistemin her ikisi hücrelerin aşırı üretimi ile açığa çıkar.

Bu başlangıctaki aşırı üretimi daha sonra sırasıyla fonksiyonel sinaptik bağlantılarını kuramayan ya da antijen spesifitesini üretemeyen hücrelerin ölümü takip eder (120). Apoptozis aynı zamanda patojenlerin istila ettiği hücrelerden vücudu kurtarmak için gereklidir ve skar doku içerisindeki granülasyon dokusunun değişimi ve inflamatuvar hücrelerin uzaklaştırılmasını içeren yara iyileşmesinin hayati bir komponentidir. Yara iyileşme süresince apoptozisin disregülasyonu geniş skar oluşumu ya da fibrozis gibi iyileşmenin patolojik formuna yol açabilir. Apoptozis aynı zamanda periferel dokularda ya da merkezi lenfoid organlarda (kemik iliği ya da timus)'ki olgunlaşma süresince aktive edilmiş ya da otoagresif immun hücrelerin elimine edilmesi için de gereklidir. İlave olarak, apoptozis post ovulator folikülün folüküler atresizi ve süttten kesme sonrası meme bezinin yeniden eski halini alması gibi erişkinlerdeki yeniden şekillenme içinde merkezi bir role sahiptir (96,121). Dahada ötesi, organizmalar yaşlandıkça, bazı hücreler hızlı bir oranda kötüleşmeye başlarlar ve apoptozis yolu ile elimine edilirler. Bir teori yaşla indüklenmiş apoptozis patofizyolojisinde, birikmiş serbest radikallerin mitokondrial DNA'ya hasar vermesi ile oksidatif stresin primer rol oynadığı yönündedir (96).

Patolojik Apoptozis ve Belirli Hastalıklarda Apoptozisin İndüklenme Mekanizmaları: Apoptozisin bir diğer formu patolojik apoptozistir. Hücre ölümünün düzenlenmesindeki anormaliteler; kanser, otoimmün lenfoproliferatif sendrom, AIDS, iskemi, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı ve Amyotrofik Lateral Sklerozis gibi nörodejeneratif hastalıkların önemli bir komponenti olabilir. Kanser, hücre siklusu düzenlemesinde rol alan normal mekanizmaların fonksiyonel olmadığı, hücrelerin aşırı çoğaldığı ve/veya hücrelerin uzaklaştırılmasının azalmasına bir örnek olarak verilebilir (122). Gerçekte, karsinogenezis süresince apoptozisin baskılanmasının gelişimde ve bazı kanserlerin ilerlemesinde merkezi bir rol oynadığı düşünülmektedir. Tümör hücrelerinin apoptozisi baskılamak için kullandıkları çeşitli moleküler mekanizmalar vardır. Tümör hücreleri Bcl-2 gibi antiapoptotik proteinlerin ekspresyonu ya da Bax gibi pro-apoptotik proteinlerin mutasyonu ya da down regülasyonu ile apoptozise karşı direnç kazanabilir. Kanserde apoptozisin baskılanmasının diğer metodu immün gözetimden kurtulmadır. Çeşitli sinyal iletim yollarındaki değişiklikler apoptozisin düzenlenmesinin bozulmasına ve kansere yol

acar. p53 tümör süpresör geni hücre siklusunu düzenleyen transkripsiyon faktörüdür ve insan tümörögenezinde çoğunlukla geniş bir şekilde mutasyona uğramıştır. Tüm insan kanserlerinin % 50'den daha fazlasında p53' ün mutasyona uğramış olması kritik role sahip olduğuna dair bir kanıttır. p53, DNA uzun süreli hasar gördüğü zaman DNA onarım proteinlerini aktive edebilir, DNA hasarını tanıdığı zaman hücre siklusunu G1/S düzenlenme noktasında tutabilir ve eğer DNA hasarının tamir edilemeyeceği kanısına varılırsa apoptozisi başlatabilir (96,123). Eğer, bu sistem yanlış işlerse tümör oluşabilir. p53 geni radyasyon, çeşitli kimyasallar ve

Human papillomavirus (HPV) gibi virüsler tarafından hasar görürse, daha sonraki zamanlarda tümör baskılanması önemli bir şekilde düşürülür. Bu genin yalnızca bir fonksiyonel kopyasını taşıyan bireylerde çoğunlukla erken erişkinlik döneminde tümöral gelişim ile karakterize edilen Li–Fraumeni sendromu gelişecektir (124). Çeşitli ajanlar tarafından indüklenmiş oksidatif hasara karşı korunmada da apoptozisin önemli bir rol aldığı tespit edilmiştir. Ataxia telangiectasia mutasyona uğramış geninin (ATM) aynı zamanda ATM/p53 sinyal yolu aracılığı ile tümör oluşumunda rol aldığı gösterilmiştir. ATM geni bir tümör süpresör gen olarak aktivasyon gören bir protein kinazı kodlar. İyonize edici radyasyonun DNA'ya zarar vermesi ile gerçekleşen ATM aktivasyonu, DNA onarımını uyarır ve hücre siklusunun ilerlemesini bloklar. Kansere ilaveten, apoptozisin yeteri düzeyde olmaması da aynı zamanda otoimmün lenfoproliferatif sendrom (ALPS) gibi hastalıklara yol açabilir. Bu çoklu otoimmün hastalıklara yol açan, otoagresif T hücreleri yetersiz apoptozise uğradığı zaman oluşur. Aşırı immunoglobulin üretimine yol açan B hücrelerinin aşırı çoğalması da otoimmüniteye yol açar. ALPS'nin genel rahatsızlıklarından bazıları; anemi, immün aracılı trombositopeni ve otoimmün nötropenidir. Aşırı apoptoziste aynı zamanda otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar ve yaralanmayla ilişkili olan iskemi gibi bazı şartlarında bir özelliği olabilir. Otoimmün bozukluk sendromu olan (AIDS), insan immunodeficiency virusu (HIV) tarafından enfeksiyon sonucu oluşan otoimmün hastalığın bir özelliğidir. Bu virüs CD4 reseptörlerine bağlanarak CD4+T hücrelerini enfekte eder. Virüs daha sonra T hücrelerinin içerisine yerleşir ve burada HIV Tat proteinlerinin T hücrelerinin geniş apoptozise uğramasına yol açan Fas reseptörünün ekspresyonunu arttırdığı düşünülür (96,125). Alzheimer hastalığı, APP (amiloid prekursor protein) ve presenilinler gibi belirli proteinlerin mutasyona uğraması ile

oluştığı düşünölen bir nörodejeneratif durumdur. Presenilinlerin APP'nin amiloid β ya işlenmesi sürecinde yer aldığı düşünölmür. Bu durum, plaklar olarak bilinen amyloid β 'nin ekstrasellöler depolanması ve amyloid β 'nin plak formunda bir araya geldiği zaman nörotoksik olduğu düşünöncesi ile ilişkilidir. Amyloid β nin oksidatif stres ya da nöronlar ve glial hücrelerdeki Fas ligandların ekspresyonlarının artırılmasını tetiklemeyle apoptozisi uyardığı düşünölmür (126). Sonuç olarak apoptozisin bir seri patolojik durumlara karşı vermiş olduğu yanıt ‘‘patolojik apoptozis’’ olarak adlandırılır. Bu nedenle fizyolojik olaylarda olduğu gibi patolojik olaylarda da apoptozis önemli yer tutmaktadır.

2.9.5. Apoptozis ve Nekrozisin Farkları

Hücre ölümlü ile ilgili ilk bilgiler 1920 yılında ışık mikroskopunun ve yeni boyama yöntemlerinin keşfiyle başlamış ve ilk olarak nekroz tanımlanmıştır (127). Hücre ölümlü canlı sistemlerdeki dinamik dengenin kontrolü için gerekli bir stratejidir ve hücre ölümlünün ikigenel farklı formu olan apoptozis ve nekrozis tanımlanmıştır. Nekrozis hücre membranının daha erken bir zamanda bozulması ile sonuçlanan ve hipoksi/iskemi, aşırı sıcaklık ve mekanik travma gibi şiddetli çevresel ajanlar ile ilgili durumlara cevap olarak ve kaza eseri oluşupasif bir süreçtir. Buna zıt olarak, apoptozis ya da programlanmış hücre ölüm mekanizması, sıkı bir şekilde düzenlenen enerji bağımlı hücre içi mekanizmanın aktivasyonunu içerir. Apoptozis tipik olarak inflamatuvar değişiklikler olmadığında tek hücre ölümlüdür (96,97,128). Erişkin organların ve dokuların homeostazisine ilave olarak embriyonik dokuların morfogenezinde de rol alır. Örneğin, fetal ve postnatal gelişim süresince akciğerin normal yapısal olgunlaşmasına eşlik eder. Apoptozis aynı zamanda organizmada tehlikeye maruz kalan (örn: viral enfeksiyona maruz kalmış) hücreleride elimine etmektedir. Apoptotik hücreler tipik morfolojik değişiklikler ile tanımlanır (96,97). Başlangıç olarak fosfatidil serine maruz kalma gibi ufak değişiklikler olmasına rağmen, hücre membran bütönlüğü devam ettirilir. Apoptotik hücrelerin diğer karakteristik özellikleri hücre büzüşmesi, membranda kabarcık oluşması, nükleer kromatin kondensasyonu ve fragmantasyonunu içerir. Sonuç olarak, hücre bu iş için özelleşmiş olan fagositler (makrofajlar ve dendritik hücreler) tarafından yutulacak olan membranı çevreleyen apoptotik yapılara parçalanır. Hücre kültüründe, apoptozisin daha sonraki

aşamalarında apoptotik yapılar plazma membran bütünlüğünü kaybederler, bunu tüm hücre bütünlüğünün kaybı takip eder ve aynı zamanda bu ikincil “nekrozis” olarak adlandırılır (128). Apoptotik hücre ölümünün alternatifi olan nekrozis, hücrelerin enerji bağımsız bir pasif ölümü modudur. Fakat nekrozis, “onkozis” adı verilen, karyoliz ve hücre şişmesi ile hücre ölümüne, apoptozis hücre büzülmesi ise piknoz ve karyoreksis ile hücre ölümüne yol açar. Bunun için onkotik hücre ölümü terimi ve onkotik nekroz, hücre şişmesine eşlik eden hücre ölümünü tanımlamak için alternatifler olarak önerilir, fakat yaygın olarak kullanılmazlar. Nekrotik hücre yaralanması, hücre membranlarının direkt zarar görmesi ve hücre enerji kaynaklarının engellenmesi olarak ifade edilen iki temel mekanizma aracılığıyla gerçekleşmektedir. Nekrozis ile oluşan bazı major morfolojik değişiklikler; hücre şişmesi, sitoplazmik vakuollerin oluşumu, endoplazmik retikulumun şişmesi, sitoplazmik kabarcıkların oluşumu, kondanse olmuş, şişmiş ya da rüptüre uğramış mitokondri, ribozomların ayrılması ve dağılması, bozulmuş organel membranları, şişmiş ve rüptüre olmuş lizozomlar ve sonuç olarak da hücre membranının parçalanmasını içerir (97,129). Hücre membranının bütünlüğünün kaybedilmesi sitoplazmik içeriklerin, çevre dokuya salınımına ve sonuç olarak da inflamatuvar hücrelerin oluşumu ile kemotaktik sinyallerin salınımına yol açar. Bunun aksine apoptotik hücreler, hücre içeriklerini çevre dokuya bırakmaz ve inflamatuvar reaksiyonu uyarmadan, makrofajlar ya da bitişindeki normal hücreler tarafından hızlı bir şekilde fagosite edilirler (130). Geleneksel histolojinin kullanımı ile apoptozisi nekrozisten ayırmak bazen kolay değildir. Çünkü uyarıların şiddeti, süresi, ATP tüketim miktarı ve kaspazların kullanılabilirliği gibi faktörlere bağlı olarak iç içe geçmiş olabilirler. Bir hücrenin nekrozis ya da apoptozis tarafından ölüp ölmemesi, hücre öldürücü sinyale, doku tipine, dokuların gelişim aşamasına ve fizyolojik çevreye kısmen bağlıdır (96,131).

2.9.6. Apoptozis Mekanizmasının Sınırları

Normal bir hücrenin fonksiyon ve yapısı homeostatik denge içerisindeydir. Bazen çok aşırı bir fizyolojik stres veya bazı patolojik uyarılar nedeniyle hücreler fizyolojik ve morfolojik hücresel adaptasyonlara gereksinim duyarlar. Bu nedenle hücre fonksiyonunu ve özelliklerini düzenleyerek, değişmiş olan yeni duruma uyum sağlamaya çalışır. Bu mekanizmalar kabaca atrofi, hipertrofi, hiperplazi ve metaplazi olarak

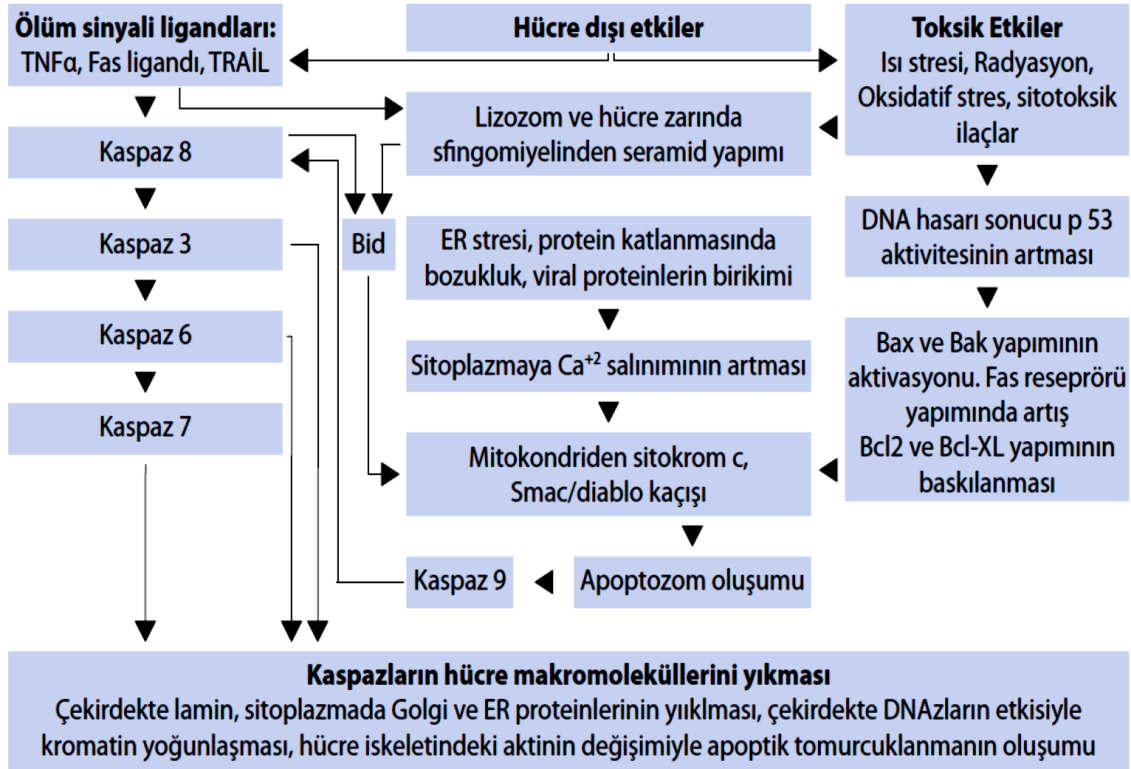
belirtilebilir. Eğer gelen uyarının Şiddeti adaptasyon sınırlarını aŐarsa veya adaptasyon olamazsa ‘‘hücre zedelenmesi’’ olarak adlandırılan olaylar zinciri gelişir. Hücre zedelenmesi, belli bir noktaya kadar geri döndürülebilir fakat uyarın yeteri kadar Şiddetli ise geri dönüşümsüz zedelenme oluşur ve hücre ölür.

Programlanmış hücre ölümü sürecini kontrol eden birçok gen tanımlanmıştır ve bu süreçte rol alan moleküler mekanizmaların korunarak günümüze kadar geldiği bildirilmiştir (127,132). Belli bir süreye kadar apoptozisin geleneksel olarak kaspaz aktivasyonu ile ölü hücrelerin uzaklaştırılması için hizmet eden genlerin oluşturduğu geriye dönüşümsüz bir süreç olduğu göz önünde tutulmuştur. Bununla beraber makrofajlar tarafından apoptotik hücrelerin alınımı, sadece hücre yıkıntılarının uzaklaştırılmasından daha fazlasını içerir (96,98). Hoeppner ve arkadaşları C. Elegans embriolarındaki yok edici genlerin bloklanmasının hücrelerin zayıf proapoptotik sinyaller ile uyarılması ile hücrenin hayatta kalmasını güçlendirdiğini göstermişlerdir. Omurgalılarda bazı dokulardaki hücre ölümlerinin devamında makrofajların potansiyel bir rolünün olduğuna dair bazı deliller vardır. Rat gözünün ön kamarasında makrofajların eliminasyonunun normal olarak apoptozisi üstlenen vasküler endotelial hücrelerin hayatta kalmasına neden olduğu gösterilirken, diğer bazı çalışmalar ise makrofajların inhibisyonunun fare gözünde ya da kurbağa kuyruğunun regresyon süresince dokuların yeniden düzenlenmesini bozabileceğini göstermiştir. Geske ve arkadaşları başlangıçta p53'un indüklediği apoptotik hücrelerin apoptotik uyarılar uzaklaştırıldığında apoptotik programdan kurtarılabilirdiğini göstermişlerdir. Onların araŐtırmaları DNA onarımının başlangıçta p53 ün indüklediği apoptotik süreçte aktive edilebileceğini ve bu DNA onarımının bazı durumlarda hücre ölüm yolunu geri döndürebileceğini öne sürmektedir. Sonuç olarak, zarar gören hücreler zararın Őiddetine ve hücrenin bunu tolere edebilme düzeyine bağlı olarak belirli bir noktaya kadar geri döndürülebilirken, bu noktadan sonra zarar geri döndürülemez.

2.9.7. Apoptozisin Biyokimyasal Özellikleri

Apoptotik hücreler; protein parçalanması, protein çapraz bağlanması, DNA kırılması ve fagositik tanıma gibi çeşitli biyokimyasal modifikasyonları üstlenirler ve bunlar belirli yapısal patolojilere yol açabilir (96,133). Apoptozis süresince kaspazlar önemli yer tutmaktadır. Kaspazlar, birçok hücrede inaktif proenzim formunda yaygın bir şekilde

bulunur ve bir kez aktive olduklarında bir proteaz kaskadının başlamasına izin veren diğer prokaspazları aktive edebilirler. Bir kaspazın diğer kaspazı aktive edebildiği bu proteolitik kaskat, apoptotik sinyal yolunu artırır ve böylece hızlı hücre ölümüne neden olur. Farklı kaspazlar komşu aminoasitin tanınmasında farklı spesifiteye sahip olmasına rağmen, bunlar proteolitik aktiviteye sahiptirler ve proteinleri aspartik asit birimlerine parçalayabilirler. Kaspazlar aktive olduklarında hücre ölümüne karşı geri dönüşümsüz bir zorunluluk ortaya çıkar. Tanımlanmış olan 10 büyük kaspaz; başlatıcılar (kaspaz- 2,-8,-9,-10), efektörler ya da karar vericiler (kaspaz-3,-6,-7) ve inflamatuvar kaspazlar (kaspaz-1,-4,-5) olarak kategorize edilmiştir (96,134). Kaspaz 11’ide içeren diğer tanımlanmış kaspazların apoptozis düzenleyicisi ve septik şok süresince sitokin olgunlaştırıcı olarak, kaspaz-12’nin endoplazmik spesifik apoptozis ve amyloid- β tarafından sitotoksitate aracısı, kaspaz-13’ün bir bovin gen olduğu ve kaspaz-14’un embriyonik dokularda oldukça yüksek düzeyde ekspre olduğu fakat erişkin dokularda ifade edilmediği belirtilmiştir. Ca^{+2} ve Mg^{+2} bağımlı endonükleazlar DNA’yı 180-200 baz çiftlik DNA fragmanlarına parçalar ve bu parçalar ultraviyole ışığı altında agaroz jel elektroforezi ile görülebilmektedir. Başka bir biyokimyasal özellik ise komşu dokuları minimal tehlikeye atan, hızlı fagositoze izin veren, komşu hücreler tarafından apoptotik hücrelerin fagositik olarak tanınmasına yol açan ve hücre lipid tabakasının fosfatidil serin ile normal olarak karşı karşıya gelme hareketi ile başarılan hücre yüzey markırlarının ekspresyonudur (96,135).



Şekil 12. Hücre içi ve hücre dışı yollarla uyarılan apoptozun biyokimyası

2.9.8. Kaspazların Aktivasyonunun Genel Özellikleri

Apoptozis süresince kaspaz aktivasyonunda; eksternal (ekstrasellüler) tetikleyiciyi takip eden ölüm reseptörünün çapraz bağlanması ve internal (intraselellüler) sinyalleri takip eden mitokondriden apoptojenik faktörlerin serbest bırakılması ile endoplazmik retikulum stres-indüklenmiş apoptozis ve kaspaz-bağımsız apoptozis önemli yollardır (137). Apoptozis kompleks biyokimyasal kaskat olaylarının bir sonucudur. Apoptozis sinyalleri esas olarak hücre içi kaspazların aktivasyonunda fonksiyon görür. Kaspazlar normal hücrelerde inaktif proenzimler olarak sentez edilirler; bunlar otoproteolitik parçalanma ya da spesifik aspartik asit rezidülerinde diğer kaspazlar tarafından hızlı bir şekilde aktive edilebilir. Kaspaz ailesinin 14 üyesi tanımlanmıştır ve bunların yedisi apoptozise aracılık eder. Apoptozis süresince, upstream sinyal ileticisi (başlatıcı kaspaz) olarak bir uzun pro-domainli kaspazlar ve kısa birprodomain içeren downstream kaspazları (effektör kaspazları) proteolitik olarak aktive eden kaspazlar fonksiyon görür (138). Başlatıcı kaspaz-8 ve 10, prodomainlerinde adaptor proteinler ile etkileşimi içeren bir öldürücü efektör domaini (DED) içerir. Bir kaspaz toplayıcı domain (CARD) kaspaz-2 ve kaspaz-9 da bulunur ve aynı zamanda bir adaptör molekülün

bağlanmasında ve efektör kaspazların aktivasyonunda önemlidir. Kaspazlar spesifik olarak bir Asparajin (Asp) rezidüsü için mutlak gerekli substratlarında bir tetrapeptid sekansını tanırlar ve parçalar. Efektör kaspazların substratların bir çeşidi üzerindeki etkisi, hücre proteinlerin proteolizisine ve apoptozis aracılığı ile ölümüne neden olur. En iyi karakterize edilmiş olan kaspaz substratı, DNA onarımında rol alan bir çekirdek proteini poly-(ADP-riboz) polimeraz (PARP)'dır. PARP spesifik kaspaz parçalanması için hedeflenmiş başlangıç proteinlerinden biridir (96,139). Laminlerin kaspaz parçalanması, çekirdek büzülmesi, sitozolik yeniden düzenlenmeye yol açan fodrin ve aktin benzeri hücre iskeleti proteinlerinin parçalanmasına neden olur (140). Dahada ötesi, DNA-protein kinaz (DNAPK), hücre siklusu düzenleyicileri [retinoblastoma protein (pRb)], transkripsiyon faktörleri (NF- κ B) ve hücre sinyal proteinleri [Raf, protein kinase B (PKB)] açıklanmıştır (141). Proteinlerin kaspaz parçalanması apoptotik infaz için kritik bir olay olmasına rağmen, muhtemelen anahtar substratların tamamı henüz bilinmiyordur. Kaspazların tamamı direkt olarak hücre ölümünde yer almaz; bazıları diğer fizyolojik fonksiyonları yerine getirir. Bu kaspazlar pro-inflamatuar sitokinler ve inflammatuar cevaplara aracılık etmede rol alırlar. Bunlara ilaveten kaspaz genlerindeki polimorfizm ile kanser arasında bir ilişkinin bulunup bulunmayacağına dair çalışmalar yapılmış ve meme kanserli hastaların, kaspaz genlerindeki (kaspaz 8 ve kaspaz 9) polimorfizm ile kanser arasında bir ilişkinin olabileceği bildirilmiştir (96,142).

2.9.9. Kaspaz Bağımsız Apoptozis

Hücre ölümünün bazı formları DNA fragmentasyonu, DNA kondenzasyonu ya da kaspaz aktivasyonu olmadığında, kaspaz inhibitörü Z-VAD.fmk'nın varlığında oluştuğunda kolaylıkla apoptozis ya da nekrozis olarak sınıflandırılmaz. Z-VAD.fmk, bir kovalent inhibitör-enzim kompleksi oluşturan bir fluoromethyl keton (fmk) grubudur ve aspartik asit rezidüsü boyunca tüm kaspazların katalitik bölgesine dönüşümsüz olarak bağlanır. Kaspaz bağımsız apoptozis fikri ile ilgili farklı görüşler vardır. Yapılan çalışmalarda orjinal olarak nekrotik ya da apoptotik olmayan morfoloji ile ilgili programlanmış hücre ölümü açıklanmıştır. Örneğin, TNF; kaspaz aktivasyonuna bağlı olarak apoptotik hücre ölümünü ya da kaspaz aktivasyonu olmaksızın nekrotik morfolojili hücre ölümünü indükler (96,143). Hücrelerin kaspaz

aktivasyonundan kaçmasının, istenmeyen hücrelerin uzaklaştırılmasında proteazların tek bir ailesine bağımlı olan organizmalar için tehlikeli olduğunda göz önünde bulundurulmalıdır. Kathepsinler, kalpainler ve serin proteazlar benzeri granzim A/B ve Omi/HtrA2 içeren kaspaz olmayan proteazların incelenmesi, kaspaz bağımsız apoptozisin anlaşılmasında önem arz etmektedir. Bu proteazlar kaspazlarla birlikte çalışabilir ve aynı zamanda kaspaz bağımsız apoptozisi indükleyebilirler.

2.9.10. Apoptozisin Engellenmesi

Birçok hücre apoptozis geçirebilmesine rağmen, apoptozis inhibitör mekanizmalarının olması bir gereksinim olarak durmaktadır. Ölüm reseptörüyle uyarılan apoptozisin endojen inhibitörlerinin bir grubu ICE inhibitör proteinleri (FLIP) ailesi benzeri FADD'a aittir ve bu moleküller başlatıcı kaspaz-8 ve 10 ya da adaptor proteinleri içeren ölüm efektör domainine bağlanmak için yarışır, böylece ölüm reseptörü tarafından indüklenen sinyal kompleksini ve apoptozisi inhibe ederler. (96,144). Aşırı apoptozisin özelliği olan birçok patolojik şartlar (nörodejeneratif rahatsızlıklar, AIDS, iskemi vb.) vardır, bu nedenle apoptozisin yapay inhibisyonundan faydalanılabilir. Antiapoptotik terapi ile ilgili metotların kısa bir listesi; proteinlerin IAP ailesinin uyarılması (apoptozis proteinlerin inhibitörü), kaspazın inhibisyonu, PARP (poli (ADP-riboz) polimeraz inhibisyonu, PKB/Akt (protein kinaz B)'nin yolunun uyarılması ve Bcl-2 proteinlerinin inhibisyonu olarak verilebilir. Proteinlerden IAP ailesi hem intrinsik hem de ekstrinsik yolu kontrol eden apoptozisin en önemli düzenleyicileri olduğu düşünülmektedir (96,145). Mitokondrial ve ölüm reseptör yolunun her ikisi apoptozis inhibitör (IAP) ailesinin baskısı altındadır. IAPs direkt ya da indirekt olarak kaspaz ailesinin üyelerini inhibe eder. XIAP, c-IAP-1 ve c-IAP-2 ye direkt bağlanarak kaspaz-3, kaspaz-7 ve kaspaz-9'u inhibe eder. Bir IAP aile üyesi olan survivin'de aynı zamanda direkt olarak kaspazları inhibe eder. IAP'ın bir antagonisti olarak Omi/HtrA2 tanımlanmıştır. Kaspaz aktivitesinin spesifik inhibitörleri fayda da sağlayabilir. ICE (İnterlokın-1 beta-dönüştürücü enzim) aynı zamanda kaspaz I olarak adlandırılır ve apoptozis süresince hücre içi protein parçalanmasına aracılık eden bir sistein proteazdır (96,146). ICE inhibitörleri Romatoid artrit ve interlokın 1 β nın azalması ile diğer inflamatuvar şartların tedavisini geliştirmektedir. Apaf-1 aktivatörü sitokrom c tarafından indüklenen kaspaz b aktivasyonunu baskılayan kaspaz-9 antagonisti (TUCAN) içeren tümör-up-regulated

CARD tanımlanmıştır. Oldukça sıkı korunmuş olan strese cevap olarak sentezlenen, heat shock proteinleri (Hsp), apoptozisin inhibisyonu ile hücrenin hayatta kalmasını kolaylaştırır. Hsp27 pro-apoptotik Bcl-2 ailesi proteinlerinin aktivitesini baskılayarak apoptozis süresince mitokondriyi koruyabilir ya da daha fazla apoptozom fonksiyonunun bozulmasına yol açabilir. Kardiak iskemi ve global beyin iskemisinin transgenik modelleri ile yapılan çalışmalar; Bax ekspresyonu veya fonksiyonunun inhibisyonunun mitokondriden sitokrom salınımını önleyebileceğini, mitokondrial membran potansiyelinde azalmayı ve apoptozise karşı hücreleri korumayı inhibe edeceğini göstermiştir (96,147).

2.9.11. Apoptozisin Anormaliteleri ve Hastalıklar

Apoptozisin hayatın ayrılmaz bir parçası olduğu ve birçok hastalığın patogenezesinde rol alabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Normal olarak apoptozis, istenmeyen, yaralanmış ve virüs tarafından enfekte edilmiş hücreleri uzaklaştırmayı sağlar, fakat bu süreç bozulduğunda hastalık oluşur. Kanseri, aterosklerozis ve otoimmün hastalıklar gibi apoptozisin baskılanması ile ilgili hastalıklar vardır. Artmış apoptozis ile bağlantılı olan diğer hastalıklar, viral enfeksiyonlar (AIDS), bakteriyel enfeksiyonlar (Neisseria meningitidis), nörodejeneratif rahatsızlıklar (Alzheimer's hastalığı), otoimmün rahatsızlıklar (multiple sclerosis), hematolojik rahatsızlıklar (myelodysplastic syndromes), iskemik yaralanmalar (myocardial infarction) ve toksin-indüklemiş hastalıklardır (alkol-indüklemiş hepatitler) (148). Yaşlanma sürecinin apoptozisin düzeninin bozulması ile ilişkili olduğu görülür. Farklı çalışmalar apoptozis düzenleyici proteinlerdeki yaş bağımlı değişiklikleri göstermiştir ve bu malignitenin yüksek prevalansı, otoimmün rahatsızlıklar ve yaşlı insanlardaki nörodejeneratif rahatsızlıklarla uyumludur.

Apoptozis ve Kanseri: Apoptozis özellikle kanseri ile bağlantılıdır. Normal hücreler eğer antikanser ilaçlar ve radyasyon gibi fizyolojik olmayan stress tipleri ile karşılaşırse ölüm için programlanır. Kanserdeki birçok hücrenin birikimi yaygın hücre proliferasyonu ve/veya yetersiz apoptoza neden olur. Antiapoptotik proteinlerin aktivitesi ya da artmış ekspresyonu ve pro-apoptotik genlerdeki her iki inaktive edici mutasyon yetersiz apoptozis ve malign hücrelerin büyümesine neden olur (96,149). Bu

nedenle proapoptotik p53 tümör süpresör genindeki mutasyonlar ve Bcl-2 ailesi proteinlerinin ekspresyonundaki değişiklikler oldukça dikkate alınmalıdır. Folikül merkezli hücrede, kromozomal t(14;18) translokasyonunda anti-apoptotik Bcl-2 geni tanımlanmıştır. Bu gen; B-hücreli lenfomalarda, akut lösemilerde ve birçok solid tümörde aşırı bir şekilde ekspre edilir ve kötü prognoz ile uyumluluk göstermektedir (96,150). Diğer Bcl-2 ailesine ait proteinlerin aşırı ekspresyonu da tanımlanmıştır; akut lösemilerde artmış Mcl-1 ekspresyonu kemoterapiden sonra nüks ile açıklanmıştır ve Bcl-XI düzeyindeki yükselme kronik myeloid lösemilerde (KML) ve multipl myelomlarda bulunmuştur (151). Proapoptotik üyeler olan Bax ve Bak'ın ekspresyonundaki yetersizlikler kolon kanseri ve hematolojik maligniteler gibi çeşitli kanserlerde tanımlanmıştır (152). Buna ilaveten, Epstein-Barr virus (EBV) gibi çeşitli patojenik virüslerin genomu Bcl-2 homologlarını kodlar. Tümör süpresör gen p53; DNA hasarı, hipoksi ve sıcaklık şoku gibi çeşitli koşullar tarafından aktive edilebilir. p53, hücre siklusunun durmasında (p21, Gadd45) ya da apoptozisin indüksiyonunda rol alan çeşitli genlerin (Bax, Apaf-1, caspase-9, Fas, DR5, p53-inducible gen (PIG ve Noxa gibi) transkripsiyonunu düzenler (96,13). p53'ün mutasyona uğraması ya da delesyonu kanserde en sık görünen genetik anomalidir; p53 fonksiyonunu inaktive eden ve p53'deki mutasyonlar sonucu oluşan insan tümörlerinin %50'sinden daha fazlası bu nedenle oluşur (96,154). p53'teki değişiklikler tümör süpresör aktivitesini kaldırır ve tümör oluşumuna eşlik eder. Mutant p53'leri ekspre eden hücreler de ilaç bağımlı apoptozise duyarlıdır. Li-Fraumeni sendromlu bireyler p53'de germline mutasyonlarına sahiptir ve artmış malignite riskine, özellikle meme kanseri ve sarkomaya meyillidir. Mutasyonlar ya da upstream p53 düzenleyicilerinin (ATM, Chk2, Mdm2 ve p19(ARF)) değişmiş ekspresyonu ve p53 proteolizisini tetikleyen human papillomavirus (HPV)-E6 onkoproteini, insan tümörlerinde tanımlanmıştır (96,155). Diğer apoptotik düzenleyicilerindeki değişiklikler de aynı zamanda çeşitli malignitelerin patogenezisinde de yer almaktadır. İnsan Fas genindeki germline mutasyonları otoimmün lenfoproliferatif sendromlar (ALAPS) ile ilişkilidir. Pro-kaspaz-8 ya da kaspaz-9 kodlayan genlerdeki mutasyonlar nöroblastoma ve gastrik karsinomalarda kaspaz-8 mutantlarını inaktive eden hücre ölümünde tanımlanmıştır (96,156). Apoptozis inhibitörleri ailesi (IAPs) normal olarak hücreleri apoptozise karşı korur, fakat aynı zamanda malignite ile de uyumluluk gösterir. IAP survivin genel olarak kanserlerde

aşırı ekspre edilir ve G2/M kontrol noktasında apoptozisi önleyerek birçok kanserde anormal mitozaya eşlik eder. Tümör oluşumuna ilaveten, apoptozisteki defektler ilaca karşı bozuklukların da temelini teşkil etmektedir (96,157). Bcl-2 ve Bcl-XI'ın aşırı ekspresyonu kemoterapiye karşı hücrelerin dirençli olmasını sağlar; artmış Bcl-2 düzeylerinin; etoposid, kamptotesin, doxorubisin, vinkristin ve aktinomisin D gibi kemoterapötik ajanlara ve dexamethasone'a karşı cevapta apoptozisi inhibe ettiği gösterilmiştir (158).

Apoptozis ve Kanser Terapisi: Reseptör aracılı ve mitokondrial aracılı yolların aracılığıyla apoptozisin indüksiyonu hedef hücreleri öldürmek için günümüzde birçok ilaç kanser tedavisinde kullanılmaktadır. Mitokondrial membran potansiyelinin bozulması, sitokrom c salınımı ve farklı kaspazların aktivasyonu farklı kemoterapötik ajanlar ile hücrelerin muamelesini takiben tanımlanmıştır. Örneğin, kemoterapi ile indüklenmiş p53 cevabı, Bax'ın transkripsiyonundaki artışa, sitokrom c salınımına ve kaspaz aktivitesine yol açar. Doxorubisin, sisplatin, methotrexate, sitarabin ve etoposid tedavisini takiben Fas sisteminin aktivasyonu ve FasL'nin indüksiyonu farklı sistemlerde incelenmiştir (96,159). Buna ilaveten, ölüm reseptör ligantı interferon α ile KML'nin tedavisi KML projenitörlerinde Fas'ın upregülasyonuna yol açar. Fas-pozitif AML'li hastaların Fas-negatif AML'li hastalara nazaran daha iyi terapötik cevaba sahip olduğu gösterilmiştir. Apoptozise direnç ve apoptozis mekanizmasının anlaşılmasındaki gelişmeler yeni antikanser ajanların geliştirilmesi için yeni anlayışlar sağlamaktadır. TNF ailesinin bir üyesi olan TRAIL, hücre yüzeyi ölüm reseptörü DR4 ve DR5'e bağlanır, Transformasyona uğramış hücreler duyarlı olmasına rağmen, normal hücreler bu mekanizmadan kaçır (96,160). Gerçekte, normal prostat hücreleri, fibroblastlar ve düz kas hücreleri etkilenmemesine rağmen, TRAIL lösemik ve solid tümör hücre hatlarında apoptozisi indükler. Buna ilaveten, peptid benzeri BH3 ve Bcl-2 hedefleyen antisens oligonükleotidler tümör hücrelerinde apoptozisi güçlendirebilir. Bcl-2 antisens ilacı olan Genasense (Genta, Inc., Berkeley Heights, NJ, USA) malign melanoma, multipl myeloma, kronik lenfositik lösemi ve küçük hücreli dışı akciğer karsinomu için faz III klinik tedavisidir (96,161). Bcl-2 antisens oligonükleotid tedavi testleri non-Hodgkin's lenfoma, akut lösemi ve küçük hücreli akciğer kanserlerinde kullanılmaktadır. Bir siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan seliciclib (CYC202 ya da R-

roscovitine) Mcl-1'in downregülasyonu aracılığı ile multipl myelomada aktivite göstermektedir. Adenoviral gen transferi ile pro-apoptotic Bax'ın tümör seçici ekspresyonu tümör hücrelerinde seçici toksisiteye yol açmaktadır (96,162). Bazı komponentler periferal benzodiazepine reseptör ligandı (PK11195), bir östrojen türevi methoxyoestradiol, indazole-3-carboxylic asit ve arsenitden türetilmiş lonidamine'in mitokondrial fonksiyon üzerinde direkt etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (96,163). p53 mutasyonu ya da disregülasyonlu hedef tümörler için küçük molekül inhibitörlerinin gelişimi ve p53 düzenleyici Mdm-2, onun ekspresyon veya fonksiyonunun inhibisyonunda da kullanılmaktadır (164). NF-κB'nin baskılanması kanser tedavisinin geliştirilmesi için diğer bir stratejidir. Çeşitli anti-apoptotik genlerin (Bcl-2, Bcl-Xl, c-IAP-2) ekspresyonunu ve NF-κB aşırı ekspresyonunu indükleyen transkripsiyon faktörleri farklı kanserlerde bulunmuştur (96,165). Bortezomib, downregüle edilmiş Bcl-2 tarafından NF-κB supresyonunun indüklediği apoptozis üzerinde duyarlı etkiye sahiptir (184). Diğer taraftan, antitümör aktivitesinin önemli bir aracısı olan BH3 proteinleri Bik ve Bim düzeylerinin, bortezomib aracılığıyla çeşitli hücre hatlarında arttığı bildirilmiştir. Heat şok proteinleri de aynı zamanda farmakolojik hedeflerdir. Bir Hsp 90 inhibitörü olan Geldanamycin açık anti tümör etki gösterir (96,166). Tüm bu terapötik seçenekler için, transforme edilmiş hücrelerde yapılacak olan çalışmalar günümüzde kullanılmakta olanlardan daha aktif ve daha az toksik yeni terapötik ajanların geliştirilmesine yol açabilir. Gelecekte, kemoterapiye duyarlı ve kemoterapiye dirençli hücreler arasında apoptozis ile ilişkili genetik değişiklikler ve karşılaştırmaların hasta spesifik profilleri, daha az ters etkiye sahip olan hasta spesifik apoptozis temelli yolları açacaktır (167).

2.10. Apoptoz İnhibitör Gen Ailesi (IAP)

Apoptoz inhibitör gen(IAP) ailesinin üyeleri tüm çok hücreli organizmaların genlerinde bulunurlar ve yapısal olarak yaklaşık 70 aminoasit çinko katının 1-3 kopyasının varlığı ile karakterize Baculovirüs IAP tekrarı(BIR) olarak belirtilir. Viral enfeksiyona konağın intihar yanıtına engel olma kabiliyetleri için orijinal olarak Baculovirüste tanımlanmışlardır. Çeşitli apoptoz inhibitörleri memeli hücrelerinde endojen kaspaz inhibitörü gibi davranarak hücre ölümünü bloke ettikleri açıktır. Kaspazlar sınırlı proteoliz ile katalitik olarak aktif hale getirilen hücreiçi sistein proteazlardır ve hücre

iskelet bütünlüğü, onarım süreci ve enerji üretimini kapsayan hücrel substratların bölünmesini sağlayarak apoptozisde görev alırlar. Apoptoz inhibitörü bağımlı hücre korumasının yapısal ihtiyaçları ayrıntılı olarak açıklanmıştır ve enzimin katalitik aktivitesi ve/yada proteolitik maturasyonunun supresyonu ile sonuçlanan IAP'leri ve efektör kaspazlar arasındaki kompleks oluşumu ile ilişkilidir. IAP ler apoptoz yolunu bloke etme yetenekleri ile birlikte ekstrinsik (ölüm reseptörü) yada intrinsik (mitokondrideki) apoptotik yollarla başlayan birçok hücre ölüm stimulusunu baskırlar. IAP-bağımlı hücre koruması, apoptoz sırasında Smac/DİABLO içeren mitokondriden salınan proteinlerin apoptoz inhibitörlerine bağlanması ve bağı kaspazların kutarılması ile antagonize edilir (şekil 1).

Belli IAP leri hücre bölünmesinin düzenlenmesinde ayrı hücrel fonksiyon da geliştirmişlerdir. Maya ve nematod *C elegans* tomurcuklanma ve bölünmesinde, genetik delesyon yada RNA müdahalesi ile IAP proteinlerin ablasyonu anormal hücre ölüm yolu ile sonuçlanmadı fakat anormal kromozomal ayırım, tamamlanmamış metafaz spindl uzaması, başarısız sitokinez, multinükleasyon ve polipoidi içeren multipl hücre bölünme bozuklukları ile sonuçlandı.

2.10.1. Survivin Yapı ve Fonksiyonu

Survivin yapısal ve fonksiyonel olarak sadece bir BIR(Baculovirüs IAP repeat) bölgesi ve uzamış –COOH terminal alfa-helix sarmal bölgesi içeren, solusyonda bir dimerik organizasyon ve mitozda pik yapan hücre siklusu ile düzenlenmiş ekspresyonu olan IAP gen ailesinin tek üyesidir. Survivin geni insan kromozomunun 17q25 üzerinde bulunur, ve 16,5 KD proteini kodlar. İnsan genomunun hibridizasyon ve filtrasyon yolu ile Altieri tarafından Yale Üniversitesinde elde edilmiştir. İnterfazda survivin ubiquitinasyon ve proteazom bağımlı destruksiyon ile ayrılır ve daha sonra ekspresyonu hücre siklus perodisitesine katkıda bulunur. G2/M de >40 kat gen ekspresyonu ile survivin mitotik aparatın değişik bölümlerine lokalize olur. Bunlar mikrotübül organize merkezleri olarak ta adlandırılan sentrozomlar, metafaz ve anafaz spindl (iğ) mikrotübülleri, ve mitotik aparatın kalıntıları(örneğin telofazda midbodiler) dir. Son zamanlarda, hücrel survivin havuzunun Aurora B kinaz ile ilişkili olarak metafaz kromozomların kinetokorlarına ve merkezi spindl ortabölgesine lokalize olduğu gösterilmiştir. Çeşitli hücrel survivin havuzları biyokimyasal olarak farklıdır ve epitop erişilebilirliğini

ayarlayan post-translasyonel modifikasyonlar ve matür proteinlerin hücre içi gelişimini yansıtır. Bununla beraber daha önceki bulgular ile varılan anlaşmada baskın survivin havuzunun kinetokorlardan ziyade spindl mikrotübülleri ile ilişkili olduğu ve metafaz progresyon kontrolünü sağladığı bulunmuştur. Survivin sitoplazmik lokalizasyonu ile bağıntılı -COOH terminal alfa-heliksi kapsayan CRM1 aracılı nükleer export yolu gösterilmiştir. Survivin iki izoformu, alternatif exon ilavesi ile survivin-2B, yada exon3 uzaklaştırılması ile survivin-ΔEx-3 üretilmiştir. Sadece survivin ve survivin-ΔEx-3 ün apoptozdan engellenmesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Survivin-ΔEx-3 te, çerçeve yer değiştirmesi ile üretilen tek -COOH terminal dizisinin iki parçalı nükleer sınırlı dizi içerdiği yakın dönemlerde gösterilmiş olup survivinin bu izoformunun nükleer birikiminin engellenmesine aracılık eder.

Bugüne kadar survivin geninin promotör bölgesinde birçok polimorfizm tanımlanmıştır. Bunlardan bazıları; -1547 A/G, -644 C/T, -625 C/G, -241 C/T ve -31 G/C polimorfizmleridir.

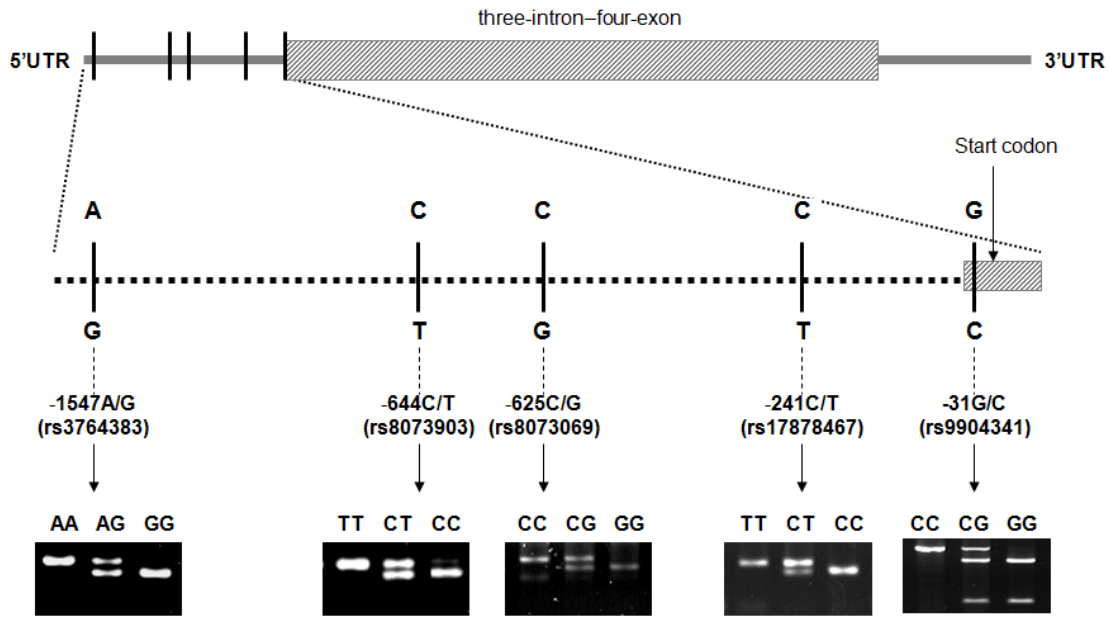
Survivin genindeki, tek nükleotid polimorfizmlerinden (SNP) biri, CDE/CHR (Cell cycle dependent element/cell cycle gene homology region) repressör bağlama bölgesinde lokalize, genin promotör bölgesi içinde yer almaktadır. Survivin geni **1547 A/G (rs3764383)** promotör polimorfizmi ile sadece küçük hücreli akciğer kanseri ve over kanseri ile ilgili toplam 2 adet yapılmış çalışma bulunmaktadır. Literatürde survivin geni **1547 A/G (rs3764383)** promotör polimorfizmi ve meme kanseri ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma literatürde meme kanserli hastalarda survivin geni **1547 A/G (rs3764383)** promotör polimorfizmi ilgili yapılan ilk çalışma olması nedeniyle önem arz etmektedir.

Tablo 3.Survivin geni polimorfizmleri

Pathway/Gene	SNP ID	Location	Selection Strategy	Locus	MAF in Patients	MAF in Hapmap (CHB)	Genotyping Call Rate (%)	HWE in Patients	Genotyping Result ^a
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs3764383	Promoter	T	A>G	0.21	0.23	99.60	0.202	19/198/349
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs8073069	Promoter	F	C>G	0.28	0.26	99.80	0.214	39/243/285
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs9904341	5' UTR	F	G>C	0.50	0.49	99.80	0.012	124/314/129
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs4789551	Intron	T	A>G	0.14	0.09	99.50	0.211	14/126/425
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs2515815	Intron	T	A>G	0.50	0.48	99.60	0.018	125/312/129
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs11868371	Intron	T	G>C	0.15	0.12	99.80	0.740	11/147/409
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs2071214	Glu129Lys	T	A>G	0.21	0.18	99.80	0.078	18/203/346
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs2239680	3' UTR	T	A>G	0.50	0.26	22.00	0.000	0/125/0
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs1042489	3' UTR	T	A>G	0.44	0.40	99.50	0.126	101/297/167
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs2661694	3' UTR	T	C>A	0.21	0.23	99.60	0.131	19/201/346
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs1042541	3' UTR	T	G>A	0.35	0.37	99.80	0.033	57/281/229
Survivin/ <i>BIRC5</i>	rs1042542	3' UTR	T	G>A	0.34	0.37	99.30	0.003	49/285/230

^a Variant homozygote/heterozygote/wild homozygote.

T, tagging SNPs; F, potentially functional SNPs; MAF, minor allele frequency; HWE, Hardy-Weinberg equilibrium.

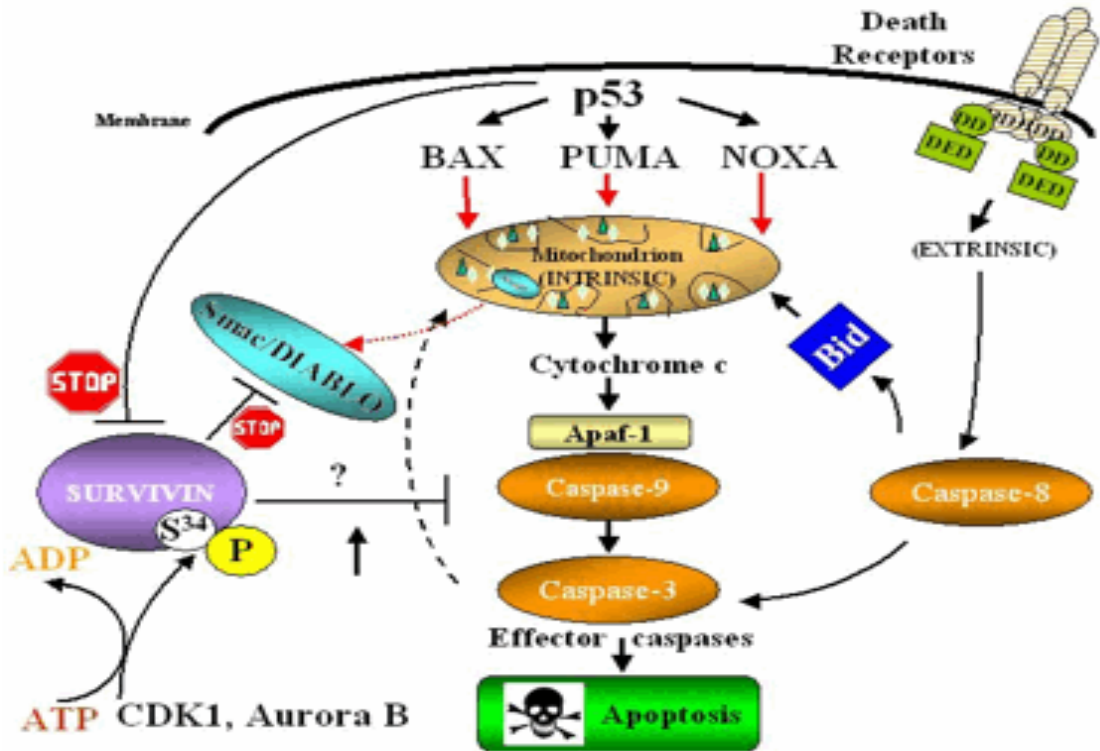


Şekil 13.Survivin geni 1547 A/G (rs3764383) polimorfizminin yerleşim lokalizasyonu

2.10.2. Hücre Ölümünde Survivin Rolü

Survivin'in apoptoz inhibisyonundaki rolü üç farklı deneysel kanıt yolu desteklenir. Birincisi, hücre kültür sistemlerinde rekombinant survivin ekspresyonunun ekstrinsik yada intrinsik yolla hücre ölümünü baskıladığı gösterilmiştir. İkincisi, survivin'in anti-apoptotik fonksiyonu genetik olarak düzenlenen hayvanlar kullanılarak in vivo gösterilmiştir. Sitokeratin-14 düzenleyici kontrolü altında epiderminin bazal tabakasında

survivin ekspresyonu keratinosit diferansiasyon yada proliferasyonunda değişiklikle sonuçlanmamıştır ama in vivo ultraviyole radyasyonun neden olduğu apoptoz inhibisyonu ve in vitro izole edilmiş keratinositler ile sonuçlanmıştır. Fare p53 ile çaprazlaştırıldığında, ultraviyoleB ile indüklenen apoptozun azalmasına katkıda bulunur ve ikinci p53 alel kaybının yerine geçerek apoptoz direncinin yaklaşık olarak tamamlanmasına destek olur. Üçüncü olarak, survivin moleküler antagonistlerinin yolu, anlamsız oligonükleotidler yada baskın negaf mutantlar (ör, Cys84→Ala) in vitro spontan Kaspaz bağımlı apoptoz ve hayvan modellerinde tümör büyümesi ile sonuçlandı. Survivinın apoptozu inhibe etme fonksiyonu Drosophilada survivin homologu Deterin ile devam eder. Deterin sineklerde apoptozu bloke eder. Ayrıca, survivin ve Deterin fonksiyonel olarak memeli ve böceklerde apoptoz inhibisyonunda birbiri ile yerdeğiştirebilir. Survivin ve kaspazlar arasında fonksiyonel bir ilişki ileri sürülmüş olsada, in vitro survivinin kaspaz-3 aktivitesini inhibe etme yeteneğinin fizyolojik anlamlılığı araştırıldı. Ek olarak, survivinin kristal yapısının diğer IAP'lerde kaspaz bağlanmasına aracılık eden "çengel" bölgesine sahip olmaması, survivin-kaspaz komplekslerinin kendine özgü yapısal gereksinimleri içerdiğini düşündürmektedir.



Şekil 14. Apoptozisin yürütülmesinde survivin rolü

2.10.3. Hücre Bölünmesinde Survivin Rolü

Spontan apoptoza ilave olarak, kanser hücrelerinde survivinin supresyonu normalden fazla sentromerler, sitokinezin başarılması, multipolar mitotik spindl formasyonu ve çok hücreli hücrelerin üretimi ile karakterize anormal mitoz progresyonuna neden olur. Survivin mitozdaki kritik rolü gelişimsel olarak zaruridir. Farelerde embriyonik 3,5 günün başlangıcında survivin geni delesyonu, mitotik spindl yokluğu ile mikrotübüllerin toparlanmasında katastrofik bir bozukluk, multinukleuslu hücrelerin oluşumu ve 4,5 günde %100 embriyonik öldürücülükle sonuçlandı. Benzer şekilde, C. Elegans ve tomurcuklanan ve bölünen mayada survivin benzeri IAP molekülünün ablasyonu sonrası mayotik ve mitotik bozukluklar gözlemlendi. Bununla beraber, C.elegans ve mayada IAP proteinlerinin gerçekten survivinin fonksiyonel ortologu olup olmadığı gösterilememiştir. Aslında, IAP proteinlerden farklı olarak, sitokinez fazında olmayıp, hücre bölünmesinin daha erken fazlarında rol aldığı gösterilmiştir. Survivin spindl mikrotübülde baskın lokalizasyonu ile bağıntılı olarak, antikörlerin survivine mikroenjeksiyonu, spindl oluşumu ve anormal metafaz progresyonunda hayati bozukluklar ortaya çıkarmıştır. Bu kardeş kromatidlerin erken ayrılması ve mikrotübül zehirlerine yanıtta spindl denetim noktası aktivasyonunda düzenleme bozukluğuna neden olur. Ayrıca, immünokimyasal olarak farklı tüm survivin havuzlarını tanıyan bir antikörün mikroenjeksiyonu, sıklıkla apoptozun takip ettiği uzamış ve güçlendirilmiş metafaz arresti ile sonuçlanmıştır. Survivine mikroenjekte edilen antikörlü hücreler mikrotübüllerin tükendiği kısa mitotik spindller gösterirken, GFP-survivin aşırı ekspresyonu spindl mikrotübül dinamiklerini değiştirmişlerdir. Benzer gözlemler survivinin retroviral ekspresyonunun apoptozu önlediği ve spindl zehirlerine karşı mikrotübül bütünlüğünü koruduğu endotel hücrelerindedir rapor edilmiştir.

2.10.4. Survivin Kanserde Seçici Ekspresyonu

Survivin en önemli özelliklerinden bitanesi normal dokulara karşı kanserdeki ayırıcı ekspresyonudur. “onko-fetal” antijenlerin benzeri, survivin embriyonik ve fetal organlarda kuvvetle eksprese olurken, normal diferansiye olan dokuların çoğunda saptanamaz. Erişkin normal dokulardan timus, düşük seviyelerde CD34+ kemik iliğinden türetilen stem hücreleri ve kolon bazal epitelinde survivin ekspresyonu rapor edilmiştir. Aksine, survivinin dramatik aşırı ekspresyonu akciğer, meme, kolon, mide,

ösefagus, pankreas, karaciğer, uterus, over tümörleri, büyük hücreli Non-Hodgkin Lenfoma, lösemiler, nöroblastoma, yumuşak doku sarkomları, melanoma ve melanoma dışı deri kanserlerinde gösterilmiştir. Genom kapsamlı araştırmalarda, survivin kolon, akciğer, beyin, meme ve melanomada eksprese olan fakat aynı organların normal dokularında saptanamayan yada çok düşük miktarlarda bulunan, en üst dördüncü “transkriptom” olarak tanımlanmıştır.

Survivinin mitozdaki rolüne rağmen, tümörlerde aşırı ekspresyonu sadece daha fazla sayıda çoğalan hücre varlığını yansıtmaz. Meme kanser modellerinin immunohistokimyasal analizi ile belgelendiği gibi survivin tipik olarak tümör hücrelerinin çoğunluğunda gözlenmiştir. Benzer sonuçlar survivin ekspresyonunun düşük yada yüksek mitotik indekse sahip vakalar arasında farksız olduğu melanomada elde edilmiştir. Ayrıca, son zamanlarda kanser-spesifik survivin gen ekspresyonu in vitro ve in vivo gösterilmiştir. Hepsi birlikte, bu veriler survivin gen ekspresyonunun kanserde global olarak regülasyonunun bozulduğunu, sadece mitozda değil, hücrenin tüm siklus fazlarında aynı tarzda arttığını öne sürmektedir. Kanserde yaygın moleküler anormallikler, regülasyonu bozuk survivin gen ekspresyonuna katkıda bulunabilir. Birincisi, nöroblastomada survivin aşırı ekspresyonu 17q25 üzerindeki survivin lokusunun büyümesi ile ilişkilir ve kromozom 17q elde edilmesi nöroblastomada görülen en yaygın genetik anormalliktir. İlave olarak, survivin exon 1 dizileri normal overlerde metilasyon ile bastırılmışlardır, ama over kanserlerinde metile edilmediği için transkripsiyonel olarak aktif olup survivin eksprese edilir. Ayrıca, son dönemlerde survivin p53 tarafından suprese edilen hedef genlerden birtanesi olarak tarif edilmiştir. Survivin gen transkripsiyonunun p53 supresyonu için direk yada indirek mekanizmayı hesaba katmadan, survivin ekspresyonu kuvvetle p53-bağımlı apoptozu etkisiz hale getirirken, en azından bir kısımda p53 nedeni ile olan survivin kaybı p53 bağımlı apoptoza katkıda bulunur. Kanserde en yaygın genetik anormalliklerden bir tanesi p53 kaybı olduğu halde, bu çalışmalar birçok farklı tümör çeşitinde, survivin aşırı ekspresyonunun nedenini açıklamada potansiyel bir iskelet oluştururlar. Son olarak, Wnt/ β -catenin signal yolu ile aktive edilen survivin hedef gen olarak önerilmişti ve survivinin kolorektal kanserde fazla düzenlenmesi, APC mutasyonlarının sonucu ve β -catenin sinyalinin anormal stabilizasyonu ile olduğu düşünülmüştür.

2.10.5. Survivin ve Kanserin Moleküler Tanısı

Retropektif çalışmalarda, survivin ekspresyonu olan hastalarda, hastalık progresyonun olumsuz markırları, artmış rekürrens hızı ve tedaviye artmış direnç ile ilişkili olarak kısalmış yaşam süresi gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda, survivin ekspresyonu bcl-2 yada düşük apoptotik indeksle ilişkili bulunmuştur. Bundan dolayı, survivin proteinin immunohistokimyasal yada tümör örneklerinde RT-PCR ile saptanması agresif hastalığın başangıç göstergesi olabilir, daha ayrıntılı takip protokolleri yada alternatif tedavi rejimlerini onaylayabilir.

Kanser tanısında survivin kullanımı için ilave bir strateji, kanser hastalarında survivine karşı potansiyel immün cevap değerlendirmesini içerir. Tümörlerde seçici ekspresyonundan dolayı, kanser hastaları survivini yabancı bir protein gibi tanıyabilir ve ona bir immün cevap başlatabilir. Gerçekten, survivine karşı dolaşan antikorlar, gastrointestinal ve akciğer kanserli hastalarda gösterilmiştir, ama normal gönüllülerde gösterilmemiştir. Bu bulgularla bağlantılı olarak, T hücrelerinin in vitro ve in vivo, survivin peptidlerine güçlü sitolitik cevap başlattıkları gösterilmiştir ve survivin peptidlerine karşı HLA sınıf-1 kısıtlı sitolitik Thücreleri in vivo meme kanseri, lösemi ve melanoma hastalarında bulunur. Bu veriler survivine kanser spesifik immün yanıtın, hem moleküler tanı hemde kanserin immün tedavisinde kullanılabilme ihtimalini, daha da ötede otoimmün etkilerin risklerini en aza indirgeyebileceğini akla getirmektedir.

Üçüncü strateji, kanser hastalarının bitolojik sıvılarında survivinin direk olarak saptanmasıdır. Bu hipotez, yüksek rekürrens hızı(>%80) ve optimalden az takip protokolleri olan mesane kanserinde onaylanmıştır. Survivin yeni yada rekurren mesane kanserli tüm hastaların idrarında saptanırken(%100 spesiflik), gönüllüler ve neoplastik olmayan genitoüriner hastalık yada mesane dışı genitoüriner kanserli hastaların idrarında survivin negatif test edilmiştir. İlave çalışmalar, hastalardan toplanan diğer biyolojik sıvılarda(ör, balgam yada serum) survivin pozitifliğini belirleme yolundadır (168,169).

3. MATERYAL-METOD

Meme kanserlerinde Survivin 1547A/G promotör polimorfizminin etkisi isimli araştırma projesi Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu tarafından kabul edildikten sonra Klinik Araştırmalar Etik Kurul'una ne başvurulmuş onay alındı. Ocak 2004 - Mayıs 2011 tarihleri arasında Turgut Özal Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalında invaziv meme karsinomu tanısıyla ameliyat edilen 143 hasta “Kanser Grubu” olarak çalışmaya alındı. Kanser grubu hastaları kendi içinde lenfatik metastazı olanlar (n:88) ve olmayanlar (n:55) şeklinde ikiye ayrıldı. Kontrol grubu olarak, 30 yaş üzeri 101 sağlıklı kadın birey aydınlatılmış onamları alındıktan sonra, kan örnekleri alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Araştırmanın genetik ile ilgili ayağı Tıp Fakültemiz Genetik Bilim Dalı Genetik Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Kanser grubu olarak fakültemiz Patoloji Anabilim Dalı'nda saklanan parafin blok doku örneklerinden alınan örneklerden elde edilen DNA'lar kullanıldı. Kontrol grubu olarak ise gönüllülerin kan örneklerinden elde edilen DNA'lar kullanıldı. Kanserli hastaların; yaş, menarş yaşı, menopoz durumu, östrojen hormon kullanımı, emzirme durumu, sigara kullanımı, ailede meme kanseri öyküsü, tümör tipi, tümör çapı, grade, lenf kanal invazyonu, vasküler invazyon, perinöral invazyon, perinodal yayılım, yaygın intraduktal komponent varlığı, lenfatik metastaz varlığı, lenfatik metastaz grubu (TNM ye göre), metastatik lenf nodu sayısı, tümör çapı evre (TNM), multisentrisite/multifokalite ve unifokalite östrojen/progesteron reseptör durumu, C-erb B2 durumu ve nüks bilgileri, anabilim dalımız meme kanseri veritabanından elde edildi. Kanser grubunda başlangıçta sistemik hastalığı olan hastalar, neoadjuvan kemoterapi alan hastalar, pür in situ karsinomlu hastalar, takipler sırasında ilişkisi kopan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

3.1. Parafin Bloktan DNA İzolasyonu

Parafin dokudan DNA izolasyonu Invitrogen PureLink™ Genomic DNA Kit For purification of genomic DNA (Kat no: K1820-02) kiti kullanılarak yapıldı. DNA izolasyonu, dokuları parafinden arındırma işlemi ve proteinaz aşaması olarak iki kısımda gerçekleştirildi. Dokular küçük parçalara ayrılarak 1,5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne kondu. 80 °C'de 15-20 dk kübe edildi. Dokular üzerine 1-1,5 ml ksilol eklenip,

55 °C'de 1 saat bekletildi. Ksilol uzaklaştırılıp, 1 ml ksilol eklenip, 55 °C'de 1 saat bekletildi. Aynı işlem bir de yarım saat bekletilerek yapıldı. Dokular yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı ve ksilolden arındırmak için alkol serilerinden geçirildi. %100' lük etanol 1 ml eklenip, 37 °C'de 30 dk tutuldu. Süpernatant uzaklaştırılıp, sırasıyla %80'lik, %60'lık ve %40'lık etil alkol serilerinde 37 °C'de 15-30 dk tutuldu. 1 ml distile suda 15 dk tutulduktan sonra 13.000 rpm'de 10 dksantrifüj edildi. Dokular yeni bir mikrosantrifüj tüpe aktarılarak proteinaz aşamasına geçildi. Parafinden arındırılan dokuların üzerine 40 µl proteinaz K ve 380 µl genomikdigestionbuffer eklendi, vortekslendi ve 55 °C'de benmaride 15 saat inkübe edildi. 13.000 rpm'de 3 dksantrifüj edilip, süpernatant yeni tüpe aktarıldı. 40 µl RNase A ilave edildi, vortekslendi, 2 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. 400 µl genomiklysis/bindingbuffer eklenerek homojen solüsyon elde edinceye kadar iyice vortekslendi. 400 µl %96 etanol eklendi ve tekrar homojen solüsyon elde edinceye kadar vortekslendi. Lizat eşit miktarda 2 tane spin kolona aktarıldı. 10.000 g'de 1 dk 25 °C'de santrifüj edildi ve toplama tüpü boşaltıldı. Spin kolona 500 µl washbuffer 1 konuldu ve 10.000 g'de 1 dk 25 °C'de santrifüj edilip, toplama tüpü boşaltıldı. Spin kolona 500 µl washbuffer 2 eklendi, 13.000 rpm de 3 dk 25 °C'de santrifüj edildi. Spin kolon 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. 100 µl genomikelutionbuffer eklendi ve oda sıcaklığında 1 dk inkübe edildikten sonra 13.000 rpm'de 1 dk 25°C'de santrifüj edildi. Nanodrop'da ölçüm yapıldıktan sonra elde edilen DNA PCR 'da kullanılmak üzere -20 °C'de saklandı.

3.2. Periferik Kandan DNA İzolasyonu

Kontrol grubuna ait periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu Fenol-Kloroform yöntemi kullanılarak yapıldı. Steril 15 ml' likfalkon tüpüne 9 ml RBC LysisBuffer (1x) ve üzerine 3 ml periferik kan konuldu. 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilip, 2000g' de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj edildikten sonra pellet korunacak şekilde, süpernatant yavaş yavaş dökülerek uzaklaştırıldı. Pelletin üzerine 350 µl 10-10 TE konuldu, pipetaj yapılarak pellet temiz bir ependorf tüpüne aktarıldı. Üzerine 20 µl %10 SDS ve 8 µl proteinase K(Qiagen Lot No:136259198) eklenip vorteks yapıldı. 15 dakika 70°C' de inkübe edildikten sonra örnekler 37 °C' de overnightinkübe edildi. Bir

gecelikinkübasyon sonrası pellet tamamen çözüldükten sonra geri kalan işlemlere devam edildi. 5000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatantın üzerine 20 µl 5 M NaCl konuldu. 400 µl Fenol(Sigma P4557) eklendi. 15000 rpm' de 15 dakika 4 °C' de santrifüj edildi. İki faz görüldü, üstteki şeffaf faz temiz bir ependorf tüpüne aktarıldı. 400 µl CIA(Sigma C0549-1PT) eklendi ve hızlıca alt üst edildi. 15000 rpm' de 15 dakika 4 °C' de santrifüj edildi. İki faz görüldü, üstteki şeffaf faz temiz bir ependorf tüpüne aktarıldı. Bu aşama iki kez tekrarlandı. Santrifüj sonrası üstde ki şeffaf kısım temiz bir ependorf tüpüne aktarıldı. Üzerine 1ml %100 etanol eklendi ve DNA elde edildi. DNA 200 ul 1-1 TE içinde çözümlenerek -20 °C'de saklandı.

3.3. DNA Amplifikasyonu

Survivin geni A>G(rs 3764383)polimorfizminin araştırılması için;

Forward 5' GCCCGATGTCAATTTAAATAAAAAGA3'

Reverse 5' GCAGAGAGTGAATGTTAAAGTTAA 3' primerlerikullanılarak aşağıdaki

117bp'lik bölge çoğaltıldı.

Forward

GCCCGATGTCAATTTAAATAAAAAGATAATTGCAAGAATAGTACAAAGAATA
TCATATACCCTTCACCCAGATTTTCTGTTTATGTTTTGCCT

“ Polimorfizm”

↓

ATTCCTTTAACATTCACCTCTCTGC

←

Reverse

3.3.1. Primerlerin Sulandırılması

Liyofilize durumdaki primerlere kullanma talimatında belirtilen miktarda 1XTE (Tris EDTA) eklenerek ve 100 pikomol/mikrolitre'lik stok çözeltiler hazırlandı. PCR işleminde kullanılmak üzere stoktan 20 pikomol/mikrolitre'likkonsantrasyonlu 100 mikrolitrelik sulandırılmış primerler hazırlandı.

3.3.2. Reaksiyon Karışımı

Total PCR reaksiyon karışımı her bir örnek için 25 mikrolitre olacak şekilde hazırlandı. 10X NH₄buffer, MgCl₂ (25mM), dNTP, primerler, H₂O ve TaqPolimerazdan oluşan

karişim her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örneklere eklendi.

Tablo 4.PCR reaksiyon karişımı

	SURVIVIN
10X NH₄Buffer	2,5 µl
MgCl₂	2,5µl
dNTP	0,5 µl
ForwardPrimer	0,5 µl
ReversePrimer	0,5 µl
Taqpolimeraz	0,2 µl (Thermo)
dH₂O	16,3µl
DNA	2 µl

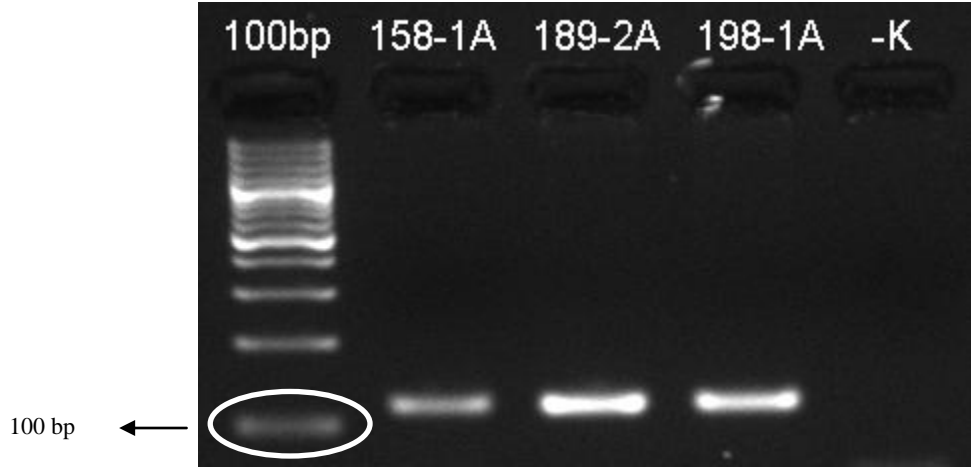
Tablo 5. Çalışılan PCR programı

Denatürasyon	94 °C	5 dakika	
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	35 döngü
Primer bağlanma	51 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	1 dakika	
Son uzama	72°C	5 dakika	

Techne TC-5000 model PCR cihazında yukarıdaki reaksiyon koşullarında amplifikasyon gerçekleştirildi.

3.4. Agaroz Jel Elektroforezi

Araştırdığımız gen bölgesinin PCR rnlerinin çoğalıp oğalmadığını kontrol etmek için %2'lik agarozjelde PCR rnleri yürütüldü. 100 ml 1X TAE (Tris/ Asetik Asit / EDTA) tamponunun içine 2 gr agaroz (İnvitrogen kat no: 16500-100g) konuldu. Mikrodalgada agaroz iyice eriyinceye kadar tutuldu. 3,6 µl etidyumbromid ilave edildikten sonra jel kalıba dökülerek 30 dakika donmaya bırakıldı. PCR ürünlerinden 5 µl alınarak 1 µl 6XLoading dye ile kariştırılıp kuyucuklara yüklendi. Jel, 90 V'de 30dk yürütüldükten sonra U.V. translminatrde görüntülendi.



Şekil 15. Hasta gruplarının PCR amplifikasyon ürünlerinin Agaroz jel elektroforez görüntüleri. (-K, kontrol amaçlı)

3.5. DNA'nın Enzimatik Kesimi ve Polimorfizmin Belirlenmesi

PCR sonucunda elde ettiğimiz PCR ürünleri bize sadece polimorfizmin olduğu bölgenin dizisini vermektedir. Araştırdığımız tek nükleotid polimorfizmlerini tespit etmek için bu bölgeleri tanıyan Restriksiyon enzimleri (RE) kullanılarak allel tespiti yapıldı.

Agaroz jel elektroforezi ile PCR ürünlerinin amplifikasyonlarının kontrolü yapıldıktan sonra enzimatik kesim işlemine geçildi. Kesim sonucunda 10 µl DNA, 2 µl 6XLoading dye ile karıştırılarak kuyucuklara yüklendi ve %3'lük jelde 100 V'de 45dk yürütüldükten sonra U.V. translüminatörde görüntülendi.

3.5.1. SURVIVIN A>G(rs 3764383) Polimorfizmi İçin Enzim Kesimi

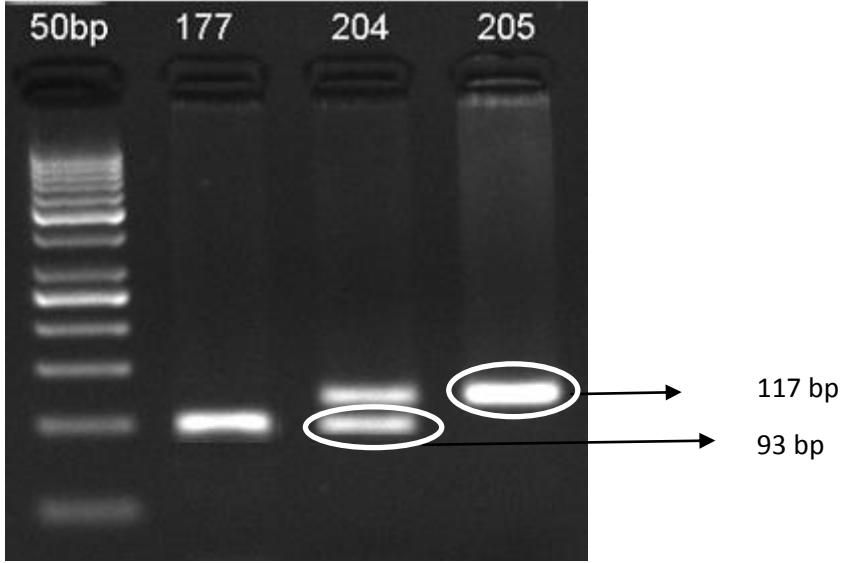
Hpy166 II (New EnglandBiolabsInc.) enzimi ile 117bp'lik genom bölümü, 93 ve 24bp'lik parçalara kesildi. Enzim G bazını kesmekteydi.

Genotipleme: AA: 117bp
AG: 117bp, 93bp, 24 bp
GG: 93bp, 24bp

AA=HOMOZİGOT WILD TYPE
AG=HETEROZİGOT
GG=HOMOZİGOT

Tablo 6. Hpy166 II enzimi için kesim koşulları

Hpy166 II	
PCR ürünü	10 µl
Enzim	0,1 µl
1X Buffer	14,9 µl
İnkübasyon	37 °C de 22 saat



Şekil 16. SURVIVIN genipolimorfizminin enzim kesimine ait agaroz jel elektroforez görüntüsü. Bu örneklerin genotipleri 177=GG, 204=GA, 205=AA

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ VE ELDE EDİLEN BULGULAR

Verilerin analizi SPSS for Windows 17,0 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler kesikli ve sürekli sayısal değişkenler için ortalama \pm standart sapma şeklinde kategorik değişkenler ise gözlem sayısı ve (%) biçiminde ifade edildi. Gruplar arasında ortalama değerler yönünden farkın önemliliği Student's t-testi ile değerlendirildi. Kategorik değişkenler Pearson'un Ki-Kare, Fisher'in Kesin Sonuçlu Ki-Kare veya Olabilirlik Oran testi ile değerlendirildi. $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

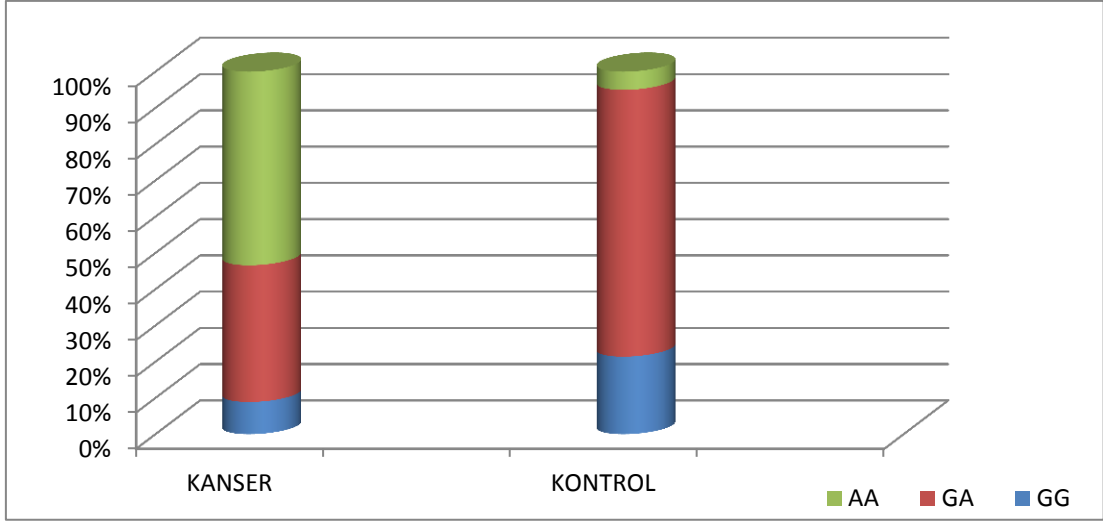
Kontrol ve kanser grupları arasında Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,235$).

Tablo 7. Kontrol ve Kanser Gruplarına Göre Olguların Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı

Değişkenler	Kanser grubu (N:143)	Kontrol grubu (N:101)	P değeri
Survivin rs3764383			
GG	13 (%52)	12 (%48)	P: 0,235
GA	54 (%54,5)	45 (%55,5)	
AA	76 (%63,3)	44 (%36,7)	
Survivin rs3764383			
GG	13 (%52)	12 (%48)	P:0,312
GA + AA	130 (%59,3)	89 (%40,7)	
Survivin rs3764383			
AA	76 (%63,3)	44 (%36,7)	P: 0,103
GG + GA	67 (%54)	57 (%46)	

Kontrol ve kanser grupları arasında Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,103$).

Kontrol ve kanser grupları arasında Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,312$).



Şekil 17. Kontrol ve Kanser Gruplarına Göre Olguların Survivin 1547-A/G Promotor Polimorfizmi Yönünden Yüzdesele Açıdan Şematik Dağılımı

Kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde her üç genotip arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,057$). Fakat aralarındaki istatistiksel ilişki anlam sınırına çok yakın bulundu. Üzerinde çalışılan seri yeterince büyütülürse aralarındaki ilişkinin anlam seviyesinde çıkabileceği kanaatindeyiz.

Her üç genotip kendi aralarında farklı gruplara ayrıldıktan sonra yapılan istatistiksel değerlendirme neticesinde;

Kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,020$).

Kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,794$).

Kanser grubundaki 143 hastanın 13'ünde GG genotipi vardır. Bunların 4'ü grade I-II (%30,8) ve 9'u grade III (%69,2) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 76'sında AA genotipi vardır. Bunların 47'si grade I-II (%61,8) ve 29'u grade III (%38,2) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 54'ünde GA genotipi vardır. Bunların 36'sı grade I-II (%66,7) ve 18'i grade III (%33,3) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 130'unda GA+AA genotipi vardır. Bunların 83'ünde grade I-II (%63,8) ve 47'sinde grade III (%36,2) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 67'sinde GA+GG genotipi

vardır. Bunların 40'ında grade I-II (%59,7) ve 27'sinde grade III (%40,3) dür. Bu sonuçlara göre G allelini taşımanın prognozu kötüleştirdiği söylenebilir.

Tablo 8. Kanser Grubunda Olguların Grade İle Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı

Değişkenler	Grade (1-2) (N:87)	Grade (3) (N:56)	P değeri
Survivin rs3764383			
GG	4 (%30,8)	9 (%69,2)	P: 0,057
GA	36 (%66,7)	18 (%33,3)	
AA	47 (%61,8)	29 (%38,2)	
Survivin rs3764383			
GG	4 (%30,8)	9 (%69,2)	P:0,020
GA + AA	83 (%63,8)	47 (%36,2)	
Survivin rs3764383			
AA	47 (%61,8)	29 (%38,2)	P: 0,794
GG + GA	40 (%59,7)	27 (%40,3)	

Kanser grubunda tümör çapı ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,539).

Kanser grubunda tümör çapı ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (ya da A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,978).

Kanser grubunda yaş ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,869).

Tablo 9. Kontrol ve Kanser Gruplarına Göre Olguların Demografik ve Klinik Özellikleri Yönünden Dağılımı

Değişkenler	Kanser grubu (N:143)	Kontrol grubu (N:101)	P değeri
Yaş	58,4 ± 7,37	50,0 ± 5,96	P: 0,000
Menarş Yaşı	13,8 ± 1,483	13,5 ± 1,414	P: 0,350
Menapoz Yaşı	45,4 ± 8,905	42,5 ± 10,542	P: 0,450
İlk Doğum Yaşı	24,6 ± 7,956	19,63 ± 3,583	P: 0,130
Son Doğum Yaşı	32,4 ± 4,336	24,75 ± 4,268	P: 0,820
Hormon Süresi (ay)	14,2 ± 12,498	21,75 ± 30,018	P: 0,220
Aile Öyküsü			
Var	26 (%18,8)	14 (%13,8)	P: 0,369
Yok	117 (%81,2)	87 (%86,2)	
Sigara			
Var	22 (%15,3)	24 (%23,7)	P: 0,159
Yok	121 (%84,7)	77 (%76,3)	
Süt Verme			
Var	103 (%72)	89 (%88,1)	P: 0,003
Yok	40 (%28)	12 (%11,9)	
Hormon Alımı			
Var	34 (%23,7)	54 (%53,4)	P: 0,000
Yok	109 (%76,3)	47 (%46,6)	

Kanser grubunda yaş ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,965).

Kanser grubunda menopoz ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,857).

Kanser grubunda hormon alımı ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,268).

Kanser grubunda süt verme ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,700$).

Kanser grubunda sigara içme ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,179$).

Kanser grubunda ailede meme kanseri öyküsü olması ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,362$).

Kanser grubunda patolojik tanı (invaziv duktal ca, invaziv lobuler ca ve diğer) ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,119$).

Kanser grubunda tümör çapı evresi ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,916$).

Kanser grubunda nüks ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,812$).

Tablo 10. Kanser Grubu İçerisinde Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Olguların Patolojik Özellikleri

Değişkenler	GG (n:13)	GA (n:54)	AA (n:76)	P değeri
Patoloji				
İnvaziv duktal ca	13 (%100)	43 (%79,6)	68 (%89,5)	0,119
İnvaziv lobuler ca	0 (%0)	10 (%18,5)	5 (%6,6)	
Diğer	0 (%0)	1 (%1,9)	3 (%3,9)	
Tümör Çapı Evre(TNM)				
≤2 cm				0,916
2> - <5 (2,1-4,9 cm)	4 (%30,8)	22 (%40,7)	27 (%35,5)	
≥5 cm	8 (%61,5)	27 (%50,0)	40 (%52,6)	
	1 (%7,7)	5 (%9,3)	9 (%11,8)	
Grade				
I-II	4 (%30,8)	36 (%66,7)	47 (%61,8)	0,057
III	9 (%69,2)	18 (%33,3)	29 (%38,2)	
LenfKanalı İnvazyonu				
Var	9 (%69,2)	29 (%53,7)	47 (%61,8)	0,488
Yok	4 (%30,8)	25 (%46,3)	29 (%38,2)	
Vasküler İnvazyon				
Var	2 (%15,4)	5 (%9,3)	9 (%38,2)	0,792
Yok	11 (%84,6)	49 (%90,7)	67 (%38,2)	
Perinöral İnvazyon				
Var	1 (%7,7)	17 (%31,5)	29 (%38,2)	0,093
Yok	12 (%92,3)	37 (%68,5)	47 (%61,8)	
Lenfatik Metastaz				
Var	10 (%76,9)	31 (%57,4)	47 (%61,8)	0,429
Yok	3 (%23,1)	23 (%42,6)	29 (%38,2)	
Lenfatik Met Grubu				
(N0) Yok	3 (%23,1)	23 (%42,6)	29 (%38,2)	0,062
(N1) 1-3 nod pozitif	7 (%53,8)	19 (%35,2)	17 (%22,4)	
(N2) 4-9 nod pozitif	2 (%15,4)	5 (%9,3)	22 (%28,9)	
(N3) 10 ve üzeri	1 (%7,7)	7 (%13,0)	8 (%10,5)	
YİK				
Var	5 (%38,5)	15 (%27,8)	27 (%35,5)	0,588
Yok	8 (%61,5)	39 (%72,2)	49 (%64,5)	
Perinodal Yayılım				
Var	4 (%30,8)	11 (%20,4)	25 (%32,9)	0,285
Yok	9 (%69,2)	43 (%79,6)	51 (%67,1)	
ER				
Pozitif	7 (%53,8)	45 (%83,3)	57 (%75,0)	0,076
Negatif	6 (%46,2)	9 (%16,7)	19 (%25,0)	
PR				
Pozitif	8 (%61,5)	43 (%79,6)	58 (%76,3)	0,388
Negatif	5 (%38,5)	11 (%20,4)	18 (%23,7)	
C-erb B2				
Bakılmadı	0 (%0)	3 (%5,6)	0 (%0)	0,070
Pozitif	6 (%46,2)	11 (%20,4)	25 (%32,9)	
Negatif	7 (%53,8)	40 (%74,0)	51 (%67,1)	
Multisentrisite				
MS-MF	6 (%46,2)	16 (%29,6)	37 (%48,7)	0,088
Unifokal	7 (%53,8)	38 (%70,4)	39 (%51,3)	
Nüks				
Var	1 (%7,7)	3 (%5,6)	3 (%3,9)	0,812
Yok	12 (%92,3)	51 (%94,4)	73 (%96,1)	

Tablo 11. Kanser Grubunda Lenfatik Metastazı Olan Grubun Lenf Metastaz Grubu İle Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı

Değişkenler (N:88)	LenfMetastaz Grubu N1 (1-3 nod pozitif)	Lenf Metastaz Grubu N2 (4-9 nod pozitif)	Lenf Metastaz Grubu N3 (10 ve üzeri)	P değeri
Survivin rs3764383				
GG	7 (%70)	2 (%20)	1 (% 10)	P: 0,039
GA	19 (%61,3)	5 (%16,1)	7 (%22,6)	
AA	17 (%36,2)	22 (%46,8)	8 (%17)	
Survivin rs3764383				
GG	7 (%70)	2 (%20)	1 (% 10)	P: 0,364
GA + AA	36 (%46,2)	27 (%34,6)	15 (%19,2)	
Survivin rs3764383				
AA	17 (%36,2)	22 (%46,8)	8 (%17)	P: 0,010
GG + GA	26 (%63,4)	7 (%17,1)	8 (%19,5)	

Kanser grubundaki lenfatik metastazı bulunan hastalarla ayrı bir grup oluşturulduğunda TNM evrelemesine uyan metastatik lenf grubu ile Survivin 1547A/G promotör polimorfizmindeki her üç genotip arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü (p=0,039).

Her üç genotip kendi aralarında farklı gruplara ayrıldıktan sonra yapılan istatistiksel değerlendirme neticesinde;

Kanser grubundaki lenfatik metastazı bulunan hastalarla ayrı bir grup oluşturulduğunda TNM evrelemesine uyan metastatik lenf grubu ile Survivin 1547A/G promotör polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,364).

Kanser grubundaki lenfatik metastazı bulunan hastalarla ayrı bir grup oluşturulduğunda TNM evrelemesine uyan metastatik lenf grubu ile Survivin 1547A/G promotör polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü (p=0,010).

Bu sonuçlara göre homozigot G allelini taşıyan hastalarda daha az sayıda aksiler lenf nodu metastazı olduğu görüldü. Ancak homozigot A allelini taşıyan hastalarda daha fazla sayıda aksiler lenf nodu metastazı olduğu görüldü. Bunun yanında AA + GA genotipini taşıyan hastalarda, GG+GA genotipini taşıyan hastalara göre daha fazla sayıda aksiler lenf nodu metastazı olduğu görüldü. Sonuç olarak bakıldığında homozigot A allelini taşımanın yanında heterozigot A allelini taşımanın da daha fazla sayıda aksiler lenf nodu metastazı gelişmesine yol açtığını söyleyebiliriz.

Tablo 12. Kanser Grubunda ER durumunun Survivin Promotor Polimorfizmi Yönünden Dağılımı

Değişkenler (N:143)	ER (+)	ER (-)	P değeri
Survivin rs3764383			
GG	7 (%53.8)	6 (%46.2)	P: 0,076
GA	45 (%83.3)	9 (%16,7)	
AA	57 (%75)	19 (%25)	
Survivin rs3764383			
GG	7 (%53.8)	6 (%46.2)	P: 0,047
GA + AA	102 (%78.5)	28 (%21.5)	
Survivin rs3764383			
AA	57 (%75)	19 (%25)	P: 0,714
GG + GA	52 (%63,4)	15 (%17,1)	

Kanser grubunda ER ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde her üç genotip arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,076$). Fakat aralarındaki istatistiksel ilişki anlam sınırına çok yakın bulundu. Üzerinde çalışılan seri yeterince büyütülürse aralarındaki ilişkinin anlam seviyesinde çıkabileceği kanaatindeyiz.

Her üç genotip kendi aralarında farklı gruplara ayrıldıktan sonra yapılan istatistiksel değerlendirme neticesinde;

Kanser grubunda ER ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (ya da A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,047$).

Kanser grubunda ER ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,714$).

Kanser grubundaki 143 hastanın 13'ünde GG genotipi vardır. Bunların 7 tanesinde ER (+) (%53.8) ve 6 tanesinde ER (-) (%46.2) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 76'sında AA genotipi vardır. Bunların 57 tanesinde ER (+) (%75) ve 19 tanesinde ER (-) (%25) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 54'ünde GA genotipi vardır. Bunların 45 tanesinde ER (+) (%83.3) ve 9 tanesinde ER (-) (%16,7) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 130'unda GA+AA genotipi vardır. Bunların 102 tanesinde ER (+) (%78.5) ve 28 tanesinde ER (-) (%21.5) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 67'sinde GA+GG genotipi vardır. Bunların 52 tanesinde ER (+) (%63,4) ve 15 tanesinde ER (-) (%17,1) dir. Bu sonuçlara göre homozigot G allelini taşımanın negatif prognostik faktörle ilişkili olduğunu ve dolayısıyla kötü prognozla ilişkili olduğu söylenebilir.

5. TARTIŞMA

Karsinogenez mekanizmalarındaki elde edilmiş bilgi birikimi, bugün kullanılan tedavi modalitelerini ve sağ kalımı belirlemektedir. Bu yoldaki en önemli adımlardan biri tümör gelişiminde kontrolsüz hücre bölünmesi kadar apoptozis defektlerinin de önemli bir rol oynadığının anlaşılmasıdır. Apoptozisteki sapmalar etyopatogenezde rol oynadığı kadar prognozu ve tedavi cevabını olumsuz yönde etkilemektedir. Çünkü bir çok kemoterapötik ilaç, etkisini hem direk sitotoksite hem de malign hücrelerde apoptozisi indükleyerek gösterir. Apoptozis defektli hücrelerde bu etkiye direnç vardır. Bu durumun klinikteki karşılığı sağkalımı olumsuz yönde etkileyen ilaç direncidir.

Apoptozis defektinden sorumlu temel moleküller Apoptozis İnhibitör Proteinleri (IAP) olarak da adlandırılan anti-apoptotik moleküllerdir. Apoptozisin karsinogenez ve tedavideki önemi anlaşıldıktan sonra anti-apoptotik moleküllerin hedeflenmesi ile ilgili yapılan araştırmalarda ciddi bir artış olmuştur. Apoptozisin genetik kontrolüne yönelik müdahaleler umut vaat etmektedir. Survivin, IAP (Apoptozis İnhibitör Protein) ailesinin üyesi olan, hücre bölünmesini düzenleyen ve apoptozisi baskılayan çift fonksiyonlu bir antiapoptotik proteindir. Anti-apoptotik etkilerini direk olarak kaspaz 9'a bağlanarak göstermektedir. Survivin terminal diferansiye dokularda ekspresyonu yokken fötal dokularda ve malign hücrelerde eksprese olduğu bilinmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalarda mesane, kolon, kolorektal, akciğer, mide ve meme kanserlerinde survivin genin aşırı eksprese olduğu bulunmuştur (124,158). Survivin hücre döngüsünün G2/M fazında ifade edilerek hücrenin bölünmesini sağlar. Survivin anti-apoptotik etkilerine ek olarak hem normal hücrelerde hem de malign hücrelerde mitozu regüle eder ve hücre döngüsünün devamlılığını sağlar (123). Survivin'in aşırı ekspresyonunun, kısalmış sağkalım ile ilişkili olmasının yanında kemoterapiye veya radyoterapiye dirençli olan tümörlerin artmış rekürrens hızı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Yapılmış birçok çalışmada çeşitli solid tümörlü hastalardaki kötü prognozun survivin ekspresyonu ile ilişkili olduğu iddia edilmektedir.

Survivin molekülünü kodlayan genin promotor bölgesi içinde tanımlanmış birkaç nükleotid polimorfizmi bulunmuştur. Bunlardan biri de, Survivin 1547A/G (rs3764383) promotor polimorfizmidir. Biz çalışmamızda meme kanserleri ve kontrol grubu arasında Survivin 1547A/G (rs3764383) promotor polimorfizmi ilişkisini araştırdık.

Survivin 1547A/G (rs3764383) promotor polimorfizminin, daha önceden, birçok farklı kanserle olan ilişkisi incelenmiş olmasına rağmen, meme kanserlerinde bu polimorfizm daha önce çalışılmamıştır. Bizim çalışmamız bu nedenle ilk olma özelliği taşımaktadır. Bu yüzden biz de, bu çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları, Survivin 1547A/G (rs3764383) promotor polimorfizminin ilişkisinin araştırıldığı diğer kanser türlerinin sonuçları ile ve Survivin geni ile ilgili yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırdık.

Yamak N. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada Survivin -31 G/C polimorfizmi ile mide kanseri arasındaki ilişki araştırılmış (170). Mide kanseri tanısı konmuş 46 hasta ve sağlıklı bireylerin oluşturduğu 42 kişilik kontrol grubu ile çalışma gerçekleştirilmiş. Hasta grubunda, GG genotipi 16 (% 34,8), GC genotipi 21 (% 45,7) ve CC genotipi ise 9 (% 19,6) olguda saptanmış. Kontrol grubunda ise, genotip dağılımı sırasıyla 13 (% 31), 26 (% 61,9) ve 3 (% 7,1) bulunmuş. Hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış (p: 0,160). Fakat CC genotipine sahip bireylerin mide kanserine yakalanma riskinin GG genotipine sahip bireylere göre daha fazla risk oluşturduğu bulunmuş.

Bizim çalışmamızda meme kanserleri ve kontrol grubu arasında Survivin 1547A/G (rs3764383) promotor polimorfizmi ilişkisini araştırdık. Hasta grubunda, GG genotipi 13 (% 48,1), GA genotipi 55 (% 53,4) ve AA genotipi ise 78 (% 62,4) olguda saptandı. Kontrol grubunda ise, GG genotipi 14 (% 51,9), GA genotipi 48 (% 46,6) ve AA genotipi 47 (%37,6) bulundu. Bizim çalışmamızda da, Yamak N. ve arkadaşlarının sonuçlarına benzer şekilde, kontrol ve meme kanseri grupları arasında, Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi (p=0,235). Ayrıca bizim çalışmamızda kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (ya da A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü (p=0,020). Kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,794). Bu sonuçlara göre literatür ile uyumlu olarak hastalık prognozu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi arasında saf G allelini taşımamanın kötü prognozla ilişkili olduğunu gördük.

E. AYNACI ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada survivin geni promotör bölgesi üzerinde bulunan -625G/C gen polimorfizmi ile küçük hücreli dışı akciğer kanseri arasında, hastalığın gelişimi ile ilgili olası ilişkilerini araştırmışlar (171). Bu çalışmaya 146 tane küçük hücreli dışı akciğer kanserli hasta ve 98 kontrol olgu dahil edildi. Yapılan istatistiksel analiz neticesinde survivin -625G/C genotip dağılımları incelendiğinde hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiş ($p=0,484$). Bizim çalışmamızda meme kanserleri ve kontrol grubu arasında Survivin 1547A/G (rs3764383) promotör polimorfizmi ilişkisini araştırdık. Bizim çalışmamızda da, E. AYNACI ve arkadaşlarının sonuçlarına benzer şekilde, kontrol ve meme kanseri grupları arasında, Survivin 1547A/G promotör polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi ($p=0,235$).

Juncheng Dai ve arkadaşları 568 tane hasta üzerinde küçük hücreli dışı akciğer kanserinin surveyi üzerinde survivin polimorfizmlerinin prognosti önemini gösteren çalışma yapmışlardır (172). Bu çalışmada 11 adet survivin promotör polimorfizmini 568 tane küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastası üzerinde araştırmışlardır. Ancak, dört SNP (rs3764383, rs8073069, rs4789551, rs1042489) küçük hücreli dışı akciğer kanserinin surveyi ile yaş, cinsiyet, sigara içme durumu, histoloji, evre, cerrahi işlem ve kemoterapi veya radyoterapi durumu anlamlı bir ilişki göstermiştir. Bununla birlikte diğer yedi SNP ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Çalışmadaki hastalarda survivin promotör 1547A/G (rs3764383) genotip frekanslarını GG %3.5, GA % 34.9, AA % 61,6 olarak saptanmış. Çalışmada, survivin polimorfizmlerinden **rs3764383**, rs8073069, rs1042489, rs4789551 ile küçük hücreli dışı akciğer kanseri hastaları arasında çok kötü prognozla önemli derecede anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Kadınlarda, sigara içicilerde ve ileri evre tümörlerde bu etki daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Bu gruplarda yüksek ekspresyon varsa, kısa survey ve kötü prognoz olduğu gözlenmiştir.

Bizim çalışmamızda kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotör polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (ya da A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,020$). Kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotör polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,794$).

Kanser grubundaki 143 hastanın 13'ünde GG genotipi vardır. Bunların 4'ü grade I-II (%30,8) ve 9'u grade III (%69,2) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 76'sında AA genotipi vardır. Bunların 47'si grade I-II (%61,8) ve 29'u grade III (%38,2) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 54'ünde GA genotipi vardır. Bunların 36'sı grade I-II (%66,7) ve 18'i grade III (%33,3) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 130'unda GA+AA genotipi vardır. Bunların 83'ünde grade I-II (%63,8) ve 47'sinde grade III (%36,2) dür. Kanser grubundaki 143 hastanın 67'sinde GA+GG genotipi vardır. Bunların 40'ında grade I-II (%59,7) ve 27'sinde grade III (%40,3) dür.

Bu sonuçlara göre Juncheng Dai ve arkadaşlarının çalışmalarında göstermiş olduğu gibi bizim çalışmamızda G allelini taşımanın prognozu kötüleştirdiği söylenebilir.

Ayrıca bizim çalışmamızda kanser grubundaki lenfatik metastazı bulunan hastalarla ayrı bir grup oluşturulduğunda TNM evrelendirmesine uyan metastatik lenf grubu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmindeki her üç genotip arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p=0,039$).

Her üç genotip kendi aralarında farklı gruplara ayrıldıktan sonra yapılan istatistiksel değerlendirme neticesinde;

Kanser grubundaki lenfatik metastazı bulunan hastalarla ayrı bir grup oluşturulduğunda TNM evrelendirmesine uyan metastatik lenf grubu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,364$).

Kanser grubundaki lenfatik metastazı bulunan hastalarla ayrı bir grup oluşturulduğunda TNM evrelendirmesine uyan metastatik lenf grubu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p=0,010$).

Bu sonuçlara göre homozigot G allelini taşıyan hastalarda daha az sayıda aksiler lenf nodu metastazı olduğu görüldü. Ancak homozigot A allelini taşıyan hastalarda daha fazla sayıda aksiler lenf nodu metastazı olduğu görüldü. Bunun yanında AA + GA genotipini taşıyan hastalarda, GG+GA genotipini taşıyan hastalara göre daha fazla

sayıda aksiler lenf nodu metastazı olduğu görüldü. Sonuç olarak bakıldığında homozigot A allelini taşımanın yanında heterozigot A allelini taşımanın dahi daha fazla sayıda aksiler lenf nodu metastazı gelişmesine yol açtığını söyleyebiliriz.

Span ve arkadaşları meme kanserli hastalarda risk sınıflandırmasında Survivin'in bağımsız bir prognostik faktör olarak rolünü incelemişlerdir (173). Survivin'in, kötü prognozla güçlü ve bağımsız bir ilişki gösterdiğini saptamışlardır. Yüksek survivin konsantrasyonlarının östrojen reseptörü veya progesteron reseptörü negatif olan tümörlerle güçlü şekilde ilişkili olduğu göstermişlerdir. Meme kanserli hastalar için uygun tedavi metodlarını saptamada hastaların sınıflandırılmasında survivinin yeni bir marker olarak kullanılabilmesine değinilmiştir. Survivin 1547A/G promotor polimorfizmini incelediğimiz bizim çalışmamızda kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (ya da A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,020$).

Kanser grubunda ER ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,047$).

Kanser grubunda ER ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,076$). Fakat aralarındaki istatistiksel ilişki anlam sınırına çok yakın bulundu. Üzerinde çalışılan seri yeterince büyütülürse aralarındaki ilişkinin anlam seviyesinde çıkabileceği kanaatindeyiz.

Kanser grubunda ER ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,714$).

Kanser grubundaki 143 hastanın 13'ünde GG genotipi vardır. Bunların 7 tanesinde ER (+) (%53.8) ve 6 tanesinde ER (-) (%46.2) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 76'sında AA genotipi vardır. Bunların 57 tanesinde ER (+) (%75) ve 19 tanesinde ER (-) (%25) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 54'ünde GA genotipi vardır. Bunların 45 tanesinde ER (+) (%83.3) ve 9 tanesinde ER (-) (%16,7) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 130'unda GA+AA genotipi vardır. Bunların 102 tanesinde ER (+) (%78.5) ve 28 tanesinde ER (-) (%21.5) dir. Kanser grubundaki 143 hastanın 67'sinde GA+GG genotipi vardır. Bunların 52 tanesinde ER (+) (%63,4) ve 15

tanesinde ER (-) (%17,1) dir. Bu sonuçlara göre homozigot G allelini taşımanın negatif prognostik faktörle ilişkili olduğu görüldü. Sonuç olarak literatürle uyumlu olarak hastalık prognozu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi arasında saf G allelini taşımanın yanında negatif prognostik faktörlerle birliktelik olmasından dolayı prognozu kötüleştirdiği söylenebilir.

Ayrıca kanser grubu içerisinde, Survivin promotor polimorfizmi açısından Progesteron Reseptör Pozitifliği (PR) ve C-Erb B2 pozitifliği yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Sırasıyla $p= 0,388$ ve $p= 0,070$). Ancak C-Erb B2 pozitifliği yönünden istatistiksel anlam sınırına çok yakın bulundu. Üzerinde çalışılan seri yeterince büyütülürse aralarındaki ilişkinin anlam seviyesinde çıkabileceği kanaatindeyiz.

Chan H. Han ve arkadaşları primerepitelyal overkanserli olan 168 hasta üzerinde hastalığın başlangıç yaşı ile survivin polimorfizmlerinin ilişkisini gösteren çalışma yapmışlardır (174). Bu çalışmada 5 adet yaygın görülen survivin promotor polimorfizmini primerepitelyal overkanserli olan 168 hasta üzerinde araştırmışlardır. Ancak, iki SNP (1547A /Grs3764383, 31G /C rs9904341) primerepitelyal over kanserinde önemli ölçüde hastalığın başlangıç yaşı ile ilişkili olduğu bulundu. Bununla birlikte diğer üç SNP ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Çalışmadaki hastalarda survivin promotor 1547A/G (rs3764383) genotip frekanslarını GG % 7,7, GA % 41,1, AA % 51,2 olarak saptanmış. 1547AA genotip(rs3764383) olan hastalarda 1547GG genotipi olan hastalar ile karşılaştırıldığında, hastalığın daha erken yaşta başladığı görülmüş ($p =0.001$). Doz-yanıt cevabına göre A aleli ne kadar fazla ise hastalığın o kadar erken yaşta başladığı görülmüş. Aynı zamanda 31CC genotipinde 31GG'ye göre hastalığın daha erken yaşta başladığı görülmüş. 1547A /G+31G /C kombinasyonu olan hastalar için veriler incelendiğinde 1547AA ve 31CC genotipleri olan 26 hastada hastalığın başlangıç yaşının daha erken olduğu bulunmuş. Her iki genotipin varlığının azalması ile hastalığın başlangıç yaşının arttığı görülmüş. Hastalığın başlangıç yaşı ile A ve C allelinin miktarının varlığı arasında anlamlı ilişki vardır. Çeşitli çalışmalar genetik varyantlar beyin, prostat, mide, meme ve yumurtalık kanserleri olan hastalarda hastalığın başlangıç yaşı ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda kanser grubunda yaş ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak)

arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,965$).

Bizim çalışmamızda kanser grubunda yaş ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,869$).

Bulgularımızın desteklenmesi için daha büyük popülasyonlarda bu polimorfizmin çalışılmasına gerek duyulmaktadır. Daha geniş hasta popülasyonu ile yapılan çalışmalar neticesinde elde edilecek sonuca göre survivin geninin meme kanserli hastalarda spesifik bir markır olarak kullanılması veya bir tarama testi olarak kullanılması mümkün kılınabilir. Elde edilecek sonuçlara göre meme kanserli hastaların tedavi modalitelerinin belirlenmesinde hasta seçimine katkı sağlaması açısından değerli bulunabilir. Meme kanseri tanı ve tedavisinde kullanılması için, ilerleyen teknolojik ve bilimsel gelişmeler ışığında Survivin genine spesifik etki gösterebilecek testler ve ilaçlar geliştirilip hastalığın tanı ve tedavisinde daha etkili sonuçlar alınabilir. Yaptığımız çalışmanın bu polimorfizm ile yapılacak olan gelecekteki başka çalışma ve incelemelere yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

6. SONUÇ

Bizim bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlara göre, Survivin 1547A/G (rs3764383) promotor polimorfizmi ile meme kanseri arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Kontrol ve meme kanseri grupları arasında Survivin 1547A/G (rs3764383) promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p=0,235$). Kanser grubundaki lenfatik metastazı olan grubun; Lenf Metastaz Grubu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p=0,039$). Kanser grubundaki lenfatik metastazı olan grubun Lenf Metastaz Grubu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG+GA genotipi (ya da G allelini taşımak) ile AA genotipi (sadece A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olduğu görüldü ($p=0,010$). Sonuç olarak bakıldığında homozigot A allelini taşımanın yanında heterozigot A allelini taşımanın dahi daha fazla sayıda aksiler lenf nodu metastazı gelişmesine yol açtığını söyleyebiliriz. Kanserli hastalarda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,020$). Kanser grubunda ER ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,047$). Bu sonuçlara göre homozigot G allelini taşımanın negatif prognostik faktörle ilişkili olduğu görüldü. Sonuçta literatür ile uyumlu olarak hastalık prognozu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi arasında saf G allelini taşımak ve saf G allelini taşıyanların negatif prognostik faktörlerle ilişkili olmasından dolayı homozigot G allelini taşımanın prognozu kötüleştirdiği söylenebilir. Bulgularımızın desteklenmesi için daha geniş popülasyonlarda yapılan başka çalışmalara gerek duyulmaktadır.

ÖZET

MEME KANSERİ ÜZERİNE SURVİVİN GENİ 1547A/G (rs3764383) PROMOTOR POLİMORFİZMİNİN ETKİSİ

Meme kanseri dünyada kadınlar arasında en sık görülen malign tümör olup, kadınlarda görülen tüm kanserlerin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Meme kanserine bağlı ölümler, akciğer ve kolorektal kanserlerden sonra üçüncü sırayı almaktadır. 40-44 yaş grubundaki kadınlarda ise en sık ölüm sebebidir. Yakın zaman önce bulunan ve BIRC5 olarak da bilinen survivin, IAP (Apoptozis İnhibitör Protein) ailesinin üyesi olan, hücre bölünmesini düzenleyen ve apoptozisi baskılayan çift fonksiyonlu bir antiapoptotik proteindir. Survivin'in mitoz ve apoptozisdeki görevleri, bu proteinin, tümörün büyüme potansiyeli olan hücrelerinde eksprese edildiğini ve tümör oluşması ile tümörün büyümesinde etkili olduğunu düşündürür. Yüksek survivin düzeyi, tümörlü hastalar için negatif bir prognostik faktördür. Survivin molekülünü kodlayan genin, promotor bölgesi içinde tanımlanmış birkaç nükleotid polimorfizmi mevcuttur. Bunlardan biri de bizim çalışmamızda araştırdığımız CDE/CHR (Cell cycle dependent element/cell cycle gene homology region) repressör bağlama bölgesinde lokalize olan, o bölgeye ait Survivin promotor 1547A/G polimorfizmidir.

Survivin promotor 1547A/G gen polimorfizmi ile literatürde sadece küçük hücreli akciğer kanseri ve over kanseri ile ilgili toplam 2 adet yapılmış çalışma bulunmaktadır (172,174). Survivin'in 1547A/G promotor polimorfizmine sahip over kanserli hastalarda, hastalığın başlangıcınında genç yaşta olduğu gösterilmiş. Survivin'in 1547A/G promotor polimorfizmine sahip küçük hücreli akciğer kanseri olan hastalarda, hastalığın kötü prognozlu olduğu istatistiksel olarak güçlü bir şekilde gösterilmiş. Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada, meme kanserlerinde ve kontrol grubunda Survivin 1547A/G promotor polimorfizmini araştırdık. Ayrıca bu çalışma, Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi meme kanserleri arasındaki ilişkinin incelenmesi bakımından bildiğimiz kadarıyla literatürdeki ilk çalışmadır.

Bu amaçla, hastanemiz genel cerrahi bölümü tarafından daha önceden ameliyat edilmiş, 143 meme kanseri hastasının patolojik spesmenlerinden alınan doku örnekleri ile gerekli klinik bilgileri çalışmaya dahil edilmiştir. Ayrıca 30 yaş üzeri, 101 sağlıklı

kadın bireyin (Kontrol grubu) de aydınlatılmış onamları alındıktan sonra kan örnekleri alınarak çalışmaya dahil edilmiştir. Bu polimorfizmin meme kanserinin gelişiminde etkisinin olup olmadığı ve meme kanserli hastaların prognozuyla olan ilişkisini ortaya koymayı amaçladık. Daha önceden ameliyat edilmiş olan kanser hastalarının patolojik spesmenlerinden alınan dokulardan ve kontrol grubu için sağlıklı kadınlardan alınmış kan örneklerinde PCR-DNA yöntemi kullanılarak Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi araştırıldı.

Sonuç olarak elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, kontrol ve meme kanseri grupları arasında, Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p=0,253$). Kanser grubunda grade ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizminde GG genotipi (sadece G allelini taşımak) ile GA+AA genotipi (yada A allelini taşımak) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü ($p=0,020$). Sonuçta literatür ile uyumlu olarak hastalık prognozu ile Survivin 1547A/G promotor polimorfizmi arasında saf G allelini taşımak ve saf G allelini taşıyanların negatif prognostik faktörlerle ilişkili olmasından dolayı homozigot G allelini taşımanın prognozu kötüleştirdiği söylenebilir.

Bulgularımızın desteklenmesi için daha geniş popülasyonlarda bu polimorfizmin çalışılmasına gerek duyulmaktadır. Yaptığımız çalışmanın bu polimorfizm ile yapılacak olan gelecekteki başka çalışma ve incelemelere yol gösterici olacağı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Meme kanseri, Apoptosis, Survivin geni, promotor polimorfizmi

SUMMARY

THE EFFECT OF SURVIVIN GENE 1547A/G (rs3764383) PROMOTER POLYMORPHISM ON BREAST CANCER

Breast cancer among women worldwide, is the most common malignant tumors, approximately 30% of all cancers in women constitute. Breast cancer deaths, after lung and colorectal cancer rank third. Women in the 40-44 age group is the most common cause of death. Found recently and known as BIRC5 survivin, IAP (inhibitor of apoptosis protein) is a member of the family, regulates cell division and suppress apoptosis of the dual-function is an anti-apoptotic proteins. The tasks mitosis survivin and apoptosis, this protein, the growth potential of the tumor cells and is expressed in oncogenesis and tumor growth is thought to be effective. High survivin levels in the tumor is a prognostic factor for patients with negative. Molecules encoding survivin gene promoter region identified in several nucleotide polymorphism site. One of them, in our study we investigate the CDE/CHR (Cell cycle dependent element / cell cycle gene homology region) repressor binding site is localized, it belongs to the region of survivin promoter 1547A / G polymorphism.

Survivin promoter 1547A / G polymorphism in the literature with only small cell lung cancer and ovarian cancer are associated with a total of 2 studies. Survivin 1547A / G promoter polymorphism in patients with ovarian cancer, at a younger age of onset of the disease was shown to be. Survivin 1547A / G promoter polymorphism in patients with small cell lung cancer with a disease with poor prognosis was shown to be statistically strong. In our study we have done, Survivin in breast cancer and control groups in the 1547A / G promoter polymorphism were investigated. Furthermore, this study Survivin 1547A / G promoter polymorphism in terms of examining the relationship between breast cancer as we know it is the first study in the literature.

For this purpose, our hospital previously had been operated by the department of general surgery, 143 breast cancer patients with pathological specimens, tissue samples taken the necessary clinical information were included in the study. In addition, over the age of 30, 101 healthy female subjects (control group) after obtaining the informed consent blood samples were included in the study. The effect of this polymorphism in the

development of breast cancer, and whether the relationship with the prognosis of breast cancer patients, we aimed to reveal. Cancer patients who had been operated previously been removed from the pathological specimen of tissue and blood sample taken from healthy women for the control group in the PCR-DNA using the method of Survivin 1547A / G promoter polymorphism was investigated.

Considering the findings obtained as a result, control and breast cancer groups, Survivin 1547A / G promoter polymorphism was observed statistically significant differences in terms of ($p = 0.253$). In the cancer group graded with Survivin 1547A / G promoter polymorphism in the GG genotype (only the G allele to move) and GA + AA genotype (or allele to move) a statistically significant difference was observed ($p = 0.020$). Results consistent with the literature prognosis with Survivin 1547A / G promoter polymorphism of pure G allele move and pure G allele carries negative prognostic factors associated with due homozygous G allele of carrying worsens the prognosis can be said.

To confirm our findings in larger populations are needed to be studied for this polymorphism. Our work to be done with this polymorphism to be a guiding future we believe further study and review.

Keywords: Breast cancer, Apoptosis, Survivin gene, promoter polymorphism

KAYNAKLAR

1. Donegan WL. History of Breast Cancer in Breast Cancer DJ Winchester, DPWinchester, CA Hudis and L. Norton. Editors. DC Decker Inc. Ontario 2006, p.1-14.
2. Baring CC, Squires TS, Tang T, Cancer Statistics 1993.CA.Cancer J Clin 43;4-26:1993
3. Kalaycı, G., Acarlı, K., Demirkol, K., Ertekin, C., , ed. Meme hastalıkları ve tarihçe. Genel Cerrahi (İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları), ed. G. Kalaycı. Vol. 1. 2002, Nobel Tıp Kitapevleri: İstanbul. 534-535.
4. Sikora, K., Genes, dreams, and cancer. BMJ, 1994. 308(6938): p. 1217-21.
5. Hoover R.Breast Cancer:Geographic,Migrant,And Time –Trend Patterns.In: Fortner JSP, ed.Accomplishments in cancer research, New York:Lippincott – Raven; 403 25:1996.
6. Sivenberg E,Lubera J:Cancer Statistics 1987,CA Cancer J Clin:37;19:1987
7. Sanders-Goebel S. Crisis and Controversy: Historical Patterns in Breast Cancer Surgery. CBMH/BCHM 8:77-99; 1991.
8. Haagensen CD. My personal technique for the Halsted radical mastectomy. Diseases of the breast (3th ed) WB Saunders, Philadelphia 1986, pp. 872-902.
9. Beenken SW, Wanger FB, Bland K1. History of the therapy of breast cancer in The Breast, KI Bland and EM Copeland III. Saunders – Elsevier, St.Louis 2004, p.3-18
10. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases, breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. BMJ, 2000; 321:624-628.
11. Parkin DM. Epidemiology of cancer: global patterns and trends. Toxicol. Lett., 1998;.102-103:227-234.
12. Aydın A. Menapoz ve Meme Kanseri. Menapoz Tedavisi ve Kanseri.2. Baskı, UniversalYayıncılık: Nobel Yayınevi, 2001: 633-694.

13. Mettlin C. Global breast cancer mortality statistics. *CA Cancer J Clin*, 1999; 49:138-144.
14. Topuz E, Aydiner A, Dinçer M. *Meme Kanseri*. 2. Baskı, Nobel Matbaacılık: Nobel tıpkıtabevi, 2003.
15. Greenlee RT, Murray T, Bolden S. Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin*, 2000; 50:7-33.
16. Erişim: www.gata.edu.tr/dahili_bilimler/onkoloji/kanser-epidemiyojisi.htm. ErişimTarihi: 27.10.2006.
17. Dunning AM, Healey CS, Pharoah PD, Teare MD, Ponder BA, Easton DF. A systematic review of genetic polymorphisms and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1999; 8:843-854.
18. Henderson BE, Feigelson HS. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 2000; 21:427-433.
19. Mitrunen K, Hirvonen A. Molecular epidemiology of sporadic breast cancer the role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutation Research*, 2003; 544:9-41.
20. Lichtenstein P, Holm NV, Verkasalo PK, Iliadou A, Kaprio J, Koskenvuo M, Pukkala E, Skytthe A, Hemminki K. Environmental and heritable factors in the causation of cancer: analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N. Engl. J. Med*, 2000; 343:78-85.
21. Rebbeck TR. Inherited genetic predisposition in breast cancer. A population-based perspective. *Cancer*, 1999; 86:2493-2501.
22. Jefcoate CR, Liehr JG, Santen RJ, Sutter TR, Yager JD, Yue W, Santner SJ, Tekmal R, Demers L, Pauley R, Naftolin F, Mor G, Berstein L. Tissue-specific synthesis and oxidative metabolism of estrogens. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 2000; 27:95-112.
23. Özçelik T. Kalıtsal Meme Kanseri ve BRCA-1-BRCA-2 Genleri. 7. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi. 2001:53-1.

24. Baykal Y, Özet A, Güran Ş, Özet G. P53 ve Onkogenezdeki Rolü. Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi, 1996; 6(2):111-115.
25. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Genetik ve Kanser. Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. 6. Baskı, İstanbul: Öncü Basımevi, 2005: 34. 3. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji. 6. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2000.
26. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Temel Patoloji. 6. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2000.
27. Rutter J, Chatterjee N, Wacholder S, Struwing J. The HER2 I655V polymorphism and breast cancer risk in Ashkenazim. Epidemiology, 2003; 14:694-700.
28. Dalay N. Meme Kanserinde Moleküler Mekanizmalar. Moleküler Kanser Sempozyumu. İzmir, 2004:62-63.
29. Russo J, Hu YF, Yang X, Russo IH. Developmental, cellular, and molecular basis of human breast cancer (in process citation). J. Natl. Cancer Inst. Monogr., 2000; 27:17-37.
30. Lipworth, Bailey LR, Trichopoulos D. History of breast-feeding in relation to breast cancer risk: a review of the epidemiologic literature, J. Natl. Cancer Inst., 2000; 92:302-312.
31. Huang WY, Newman B, Millikan RC, Schell MJ, Hulka BS, Moorman PG. Hormone-related factors and risk of breast cancer in relation to estrogen receptor and progesterone receptor status. Am. J. Epidemiol, 2000; 151:703-714.60
32. Schairer C, Lubin J, Troisi R, Sturgeon S, Brinton L, Hoover R. Estrogen-progestin replacement and risk of breast cancer. JAMA, 2000; 284:691-694.
33. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. JAMA, 2002; 288:321-333.

34. Garner CE, Burka LT, Etheridge AE, Matthews HB. Catechol metabolites of polychlorinated biphenyls inhibit the catechol-O-methyltransferase-mediated metabolism of catechol estrogens. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2000; 162:115-123
35. Hunter DJ, Willet WC. Diet, body size, and breast cancer. *Epidemiol. Rev.*, 1993; 15:110-132
36. Steinmetz KA, and Potter JD. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review: *J. Am. Diet. Assoc.*, 1997; 96:1027-1039.
37. Perumal SS, Shanthi P, Sachdanandam P. Augmented efficacy of tamoxifen in rat breast tumorigenesis when gavaged along with riboflavin, niacin, and CoQ10: Effects on lipid peroxidation and antioxidants in mitochondria. *Chemico-Biological Interactions*, 2005; 152: 49-58.
38. Kheifets LI, Matkin CC. Industrialization, electromagnetic fields, and breast cancer risk. *Environ. Health Perspect.*, 1999; 107:145-154.
39. Kıvanç ÇEFLE, Kanser Genetiği, KLİNİK GELİŞİM DERGİSİ CİLT: 22 / NO:3 2009
40. Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008; 385:503- 511.
41. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM (TM). Johns Hopkins University, Baltimore, MD. MIM Number: { 191170}: { 5/12/2009}:. World Wide Web URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>.
42. Knudson AG Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971; 68:820-823.
43. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990; 61: 759-767.
44. Beaupre DM, Kurzrock R. RAS and leukemia: from basic mechanisms to gene-directed therapy. *J Clin Oncol* 1999; 17:1071-1079.
45. Dalla Favera R, Bregni M, Erikson J, Patterson D, Gallo RC, Croce CM. Human c-myc onc gene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982; 79:7824-7827.
46. Erikson J, Nishikura K, ar-Rushdi A, et al. Translocation of an immunoglobulin

- kappa locus to a region 3' of an unrearranged c-myc oncogene enhances c-myc transcription. Proc Natl Acad Sci U S A 1983; 80:7581-7585.
47. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al: Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. N Engl J Med 2005; 353:1673-1684.
 48. Chen Z, Sandberg AA. Molecular cytogenetic aspects of hematological malignancies: Clinical implications. Am J Med Genet 2002; 115:130-141.
 49. Weinstein IB. Cancer. Addiction to oncogenes—the Achilles heel of cancer. Science 2002;297:63–64.
 50. Weinstein IB, Joe A. Oncogene addiction. Cancer Res. 2008 May 1;68(9):3077-3080.
 51. Hahn W. Role of Telomeres and Telomerase in the pathogenesis of human cancer. J Clin Oncol 2003; 21:2034-2043.
 52. Blenkiron C, Miska EA. miRNAs in cancer: approaches, aetiology, diagnostics and therapy. Hum Mol Genet 2007; 16:106-113.
 53. Tong AW, Nemunaitis J. Modulation of miRNA activity in human cancer: a new paradigm for cancer gene therapy?. Cancer Gene Ther 2008; 15:341-55.
 54. Feinberg AP. Epigenetics at the epicenter of modern medicine. JAMA 2008; 299(11):1345-1350
 55. Hülya CABADAK, HÜCRE SIKLUSU VE KANSER, ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2008; 9(3): 51 – 61
 56. Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE. Molecular Cell Biology. 4 edition: WHFreeman and Co, New York, 2000.
 57. Vermeulen K, VanBockstaele DR, Berneman Z N. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. Cell Prolif 2003; 36: 131- 49.
 58. Vermeulen K, Berneman ZN, vanBockstaele DR. Cell cycle and apoptosis. Cell Prolif 2003; 36: 165-75.
 59. Foster I. Cancer: A cell cycle defect. Radiography 2008; 14: 144-9.

60. Hu W, Feng Z, Teresky AK, Levine AJ. p53 regulates maternal reproduction through LIF. *Nature* 2007; 450(7170): 721-4.
61. Champard JC, Lefloch R, Pouyssegur J, Lenormand P. Erk implication in cell cycle regulation. *Biochem BiophysActa* 2007; 1773(8): 1299-310.
62. Kearns WG, Liu JM. Cell cycle checkpoint genes and aneuploidy: A short review. *Current Genomics* 2001; 2: 171-80.
63. 76. Stellwagen AE, Haimberger ZW, Veatch JR, Gottschling DE. Ku interacts with telomerase RNA to promote telomere addition at native and broken chromosome ends. *Genes Dev* 2003; 17: 2384-95.
64. 88. Pihan GA, Purohit A, Wallace J, Knecht H, Woda B, Quesenberry P, Doxsey SJ. Centrosome defects and genetic instability in malignant tumors. *Cancer Res* 1998; 58; 3974-85.
65. Abdullah Ekmekçi ve Ark. Gen polimorfizmi ve kansere yatkınlık. *Marmara Medical Journal* 2008;21(3);282-295
66. Engelsens IB, Stefansson IM, Beroukhim R, et al. HER-2/neu expression is associated with high tumor cell proliferation and aggressive phenotype in a population based patient series of endometrial carcinomas. *Int J Oncol* 2008; 32 (2): 307-316.
67. Massagué J. G1 cell-cycle control and cancer. *Nature* 2004; 432: 298-306.
68. Bélanger H, Beaulieu P, Moreau C, Labuda D, Hudson TJ, Sinnett D. Functional promoter SNPs in cell cycle checkpoint genes. *Hum Mol Genet* 2005;14: 2641-2648.
69. Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ. The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 1993; 75 (4): 805-816.
70. Zhao J, Pestell R, Guan JL. Transcriptional activation of cyclin D1 promoter by FAK contributes to cell cycle progression. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 4066-4077.
71. Proctor AJ, Coombs LM, Cairns JP, Knowles MA. Amplification at chromosome 11q13 in transitional cell tumours of the bladder. *Oncogene* 1991; 6 (5):789-795.

72. Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature* 2000; 405: 847-856.
73. Meijers-Heijboer H, van den Ouweland A, Klijn J, et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2*1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations, *Nat Genet* 2002; 31: 55-59.
74. Zhu L, Skoutchi AI. Coordinating cell proliferation and differentiation. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 91-97. 292
75. Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999; 13: 1501-1512.
76. Signoretti S, Loda M. Prostate stem cells: from to cancer. *Semin Cancer Biol* 2007; 17: 219-224.
77. 63. Wang J, Yen A. A novel retinoic acid-responsive element regulates retinoic acid-induced BLR1 expression. *Mol Cell Biol* 2004; 24: 2423-2443
78. Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11:1513-1530.
79. Imyanitov E, Hanson K, Zhivotovsky B. Polymorphic variations in apoptotic genes and cancer predisposition. *Cell Death Differ* 2005; 12: 1004–1007.
80. López-Cima MF, González-Arriaga P, García-Castro L, et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of Northern Spain. *BMC Cancer* 2007; 7:162.
81. Gu A, Ji G, Liang J, et al. DNA repair gene XRCC1 and XPD polymorphisms and the risk of idiopathic azoospermia in a Chinese population. *Int J Mol Med* 2007; 20 (5): 743-747.
82. Gerl R, Vaux DL. Apoptosis in the development and treatment of cancer. *Carcinogenesis* 2005; 26: 263–270.
83. Zhivotovsky B, Orrenius S. Carcinogenesis and apoptosis: paradigms and paradoxes. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1939-1945.

84. Yang X, Sit WH, Chan DK, Wan JM. The cell death process of the anticancer agent polysaccharidepeptide (PSP) in human promyelocytic leukemic HL-60 cells. *Oncol Rep* 2005; 13: 1201-1210.
85. 87. Sun T, Miao X, Zhang X, Tan W, Xiong P, Lin D. Polymorphisms of death pathway genes FAS and FASL in esophageal squamous-cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1030–1036.
86. Hazra A, Chamberlain RM, Grossman HB, Zhu Y, Spitz MR, Wu XI. Death receptor 4 and bladder cancer risk. *Cancer Res* 2003; 63: 1157–1159.
87. MacPherson G, Healey CS, Teare MD, et al. Association of a common variant of the CASP8 gene with reduced risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96 (24): 1866–1869.
88. Ekmekci A. *Gen, Genetik Değişim ve Hastalıklar*, Gazi Kitabevi. Ankara, Türkiye, 1st ed., 2006; 217-245
90. Risau W. Mechanisms of Angiogenesis. *Nature* 1997;386: 671-674.
91. Konac E, Onen HI, Metindir J, Alp E, Biri AA, Ekmekci A. Lack of association between -460 C/T and 936 C/T of the vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 exon 4 G/A polymorphisms and ovarian, cervical, and endometrial cancers. *DNA Cell Biol* 2007; 26: 453-463.
92. Onen IH, Konac E, Eroglu M, Guneri C, Biri H, Ekmekci A. No association between polymorphism in the vascular endothelial growth factor gene at position-460 and sporadic prostate cancer in the Turkish population. *Mol Biol Rep* 2008; 1: 17-22.
93. Hartsough MT, Steeg PS. Nm23/nucleoside diphosphate kinase in human cancers. *J Bioenerg Biomembr* 2000; 32 (3): 301-308.
94. 120. Lei H, Hemminki K, Johansson R, Altieri A, Enquist K, Henriksson R, et al. PAI-1 -675 4G/5G polymorphism as a prognostic biomarker in breast cancer, *Breast Cancer Res Treat*, DOI: 10.1007/s10549-007-9635-3 July 7; 2007..

95. Onen HI, Ekmekci A, Eroğlu M, Konac E, Yeşil S, Biri H: Association of genetic polymorphisms in vitamin D receptor gene and susceptibility to sporadic prostate cancer. *Exp Biol Med* 2008; 233 (12): In Press
96. R. Eröz, A. Karataş, OA. Alkoç, D. Baltacı, M. Oktay, S. Çolakoğlu; The Known About Apoptosis (Review of the Literature) *Düzce Tıp Dergisi* 2012; 14(2): 87-101
97. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-57, 1972.
98. Susan Elmore. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol.* 35(4):495-516, 2007.
99. Debnath J, Baehrecke EH, Kroemer G. Does autophagy contribute to cell death? *Autophagy* 1:66- 74, 2005.
100. Kerr JFR, Harmon BV. Definition and incidence of apoptosis: an historical perspective. In: Tomei LD, Cope FO, eds. *Apoptosis: the molecular basis of cell death*, Vol. 3. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 5-29, 1991.
101. Itoh N, Nagata S. A novel protein domain required for apoptosis: mutational analysis of human Fas antigen. *J Biol Chem* 268:10932-10937, 1993.
102. Cross TG, Scheel-Toellner D, Heriquez NV, Deacon E, Salmon M, Lord JM. Serine/Threonine protein kinases and apoptosis. *Exp Cell Res* 256:34-41, 2000.
103. Wallach D, Boldin M, Varfolomeev E, Beyaert R, Vandenabeele P, Fiers W. Cell death induction by receptors of the TNF family: towards a molecular understanding. *FEBS Lett* 410:96-106, 1997.
104. Muzio M, Salvesen GS, Dixit VM. FLICE induced apoptosis in a cell free system. *J Biol Chem* 272:2952-2956, 1997.
105. Scaffidi C, Schmitz I, Zha J, Korsmeyer SJ, Krammer PH, Peter ME. Differential modulation of apoptosis sensitivity in CD95 type I and type II cells. *J Biol Chem* 274:22532-22538, 1999.
106. Cain K, Bratton SB, Langlais C, Walker G, Brown DG, Sun XM, and Cohen G. MAPaf-1 oligomerizes into biologically active approximately 700-kDa and

- inactive approximately 1.4- Mda apoptosome complexes. *J Biol Chem* 275:6067-6070,2000.
107. Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J. Granzim A induces caspase- independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity* 22:355–70, 2005.
 108. Lowe SW, Schmitt EM, Smith SW, Osborne BA, and Jacks T. p53 is required for radiation-induced apoptosis in Mouse thymocytes. *Nature* 362:847-849, 1993.
 109. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 281:1305-8, 1998.
 110. Suliman A, Lam A, Datta R, Srivastava RK. Intracellular mechanisms of TRAIL: apoptosis through mitochondrialdependent and -independent pathways. *Oncogene* 20:2122–33, 2001.
 111. Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science* 296:1635–6, 2002.
 112. Kataoka T, Schroter M, Hahne M, Schneider P, Irmeler M, Thome M, Froelich CJ, Tschopp J. FLIP prevents apoptosis induced by death receptors but not by perforin/granzim B,chemotherapeutic drugs, and gamma irradiation. *J Immunol* 161:3936–42, 1998.
 113. Saelens X, Festjens N, Vande Walle L, van Gurp M, van Loo G, Vandenabeele P. Toxic proteins released from mitochondria in cell death. *Oncogene* 23:2861–74, 2004.
 114. Joza N, Susin SA, Daugas E, Stanford WL, Cho SK, Li CY, Sasaki T, Elia AJ, Cheng HY, Ravagnan L, Ferri KF, Zamzami N, Wakeham A, Hakem R, Yoshida H, Kong YY, Mak TW, Zuniga- Pflucker JC, Kroemer G, Penninger JM. Essential role of the mitochondrial apoptosis-inducing factor in programmed cell death. *Nature* 410:549–54, 2001.
 115. Esposti MD. The roles of Bid. *Apoptosis* 7:433–40, 2002.
 116. Meyer N, Kim SS, Penn LZ. The Oscar-worthy role of Myc in apoptosis. *Semin Cancer Biol* 16:275–87, 2006.

117. Slee EA, Adrain C, Martin SJ. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. *J Biol Chem* 276:7320–6, 2001.
118. Bratton DL, Fadok VA, Richter DA, Kailey JM, Guthrie LA, Henson PM. Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J Biol Chem* 272:26159–65, 1997.
119. Renehan AG, Booth C, Potten CS. What is apoptosis, and why is it important? *Bmj* 322:1536–8, 2001.
120. Opferman JT, Korsmeyer SJ. Apoptosis in the development and maintenance of the immune system. *Nat Immunol* 4:410–5, 2003.
121. Lund LR, Romer J, Thomasset N, Solberg H, Pyke C, Bissell MJ, Dano K, Werb Z. Two distinct phases of apoptosis in mammary gland involution: proteinase-independent and -dependent pathways. *Development* 122:181–93, 1996.
122. King KL, Cidlowski JA. Cell cycle regulation and apoptosis. *Annu Rev Physiol* 60:601–17, 1998.
123. Pietsenpol JA, Stewart ZA. Cell cycle checkpoint signaling: cell cycle arrest versus apoptosis. *Toxicology* 181–182:475–81, 2002.
124. Gu J, Kawai H, Wiederschain D, Yuan ZM. Mechanism of functional inactivation of a Li-Fraumeni syndrome p53 that has a mutation outside of the DNA-binding domain. *CancerRes* 61:1741–6, 2001.
125. Li CJ, Friedman DJ, Wang C, Metelev V, Pardee AB. Induction of apoptosis in uninfected lymphocytes by HIV-1 Tat protein. *Science* 268:429–31, 1995.
126. Ethell DW, Buhler LA. Fas ligand-mediated apoptosis in degenerative disorders of the brain. *J Clin Immunol* 23:439–46, 2003.
127. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Cellular adaptations, cell injury, and cell death. In Kumar V, Abbas AK, Fausto N, editors. *Pathologic basis of disease*. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders, 3-46, 2005.

128. Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 68:251–306, 1980.
129. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 146:3–15, 1995.
130. Kurosaka K, Takahashi M, Watanabe N, Kobayashi Y. Silent cleanup of very early apoptotic cells by macrophages. *J Immunol* 171:4672–9, 2003.
121. Fiers W, Beyaert R, Declercq W, Vandenabeele P. More than one way to die: apoptosis, necrosis and reactive oxygen damage. *Oncogene* 18:7719–30, 1999.
132. Metzstein MM, Stanfield GM, Horvitz HR. Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet* 14:410–6, 1998.
133. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407:770–776, 2000.
134. Rai NK, Tripathi K, Sharma D, Shukla VK. Apoptosis: a basic physiologic process in wound healing. *Int J Low Extrem Wounds* 4:138–44, 2005.
135. Kang SJ, Wang S, Kuida K, Yuan J. Distinct downstream pathways of caspase-11 in regulating apoptosis and cytokine maturation during septic shock response. *Cell Death Differ* 9:1115–25, 2002.
136. Bratton DL, Fadok VA, Richter DA, Jenai MK, Guthrie LA, Henson PM. Appearance of phosphatidylserine on apoptotic cells requires calcium-mediated nonspecific flip-flop and is enhanced by loss of the aminophospholipid translocase. *J. Biol. Chem.* 272:26159-26165, 1997.
137. Vermeulen K, Bockstaele DRV, Berneman ZN. Apoptosis: mechanisms and relevance in cancer *Ann Hematol* 84: 627– 639, 2005
138. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 281:1312–1316, 1998.
139. Duriez PJ, Shah GM. Cleavage of poly(ADPribose) polymerase: a sensitive parameter to study cell death. *Biochem Cell Biol* 75:337–349, 1997.
140. Mashima T, Naito M, Fujita N, Noguchi K, Tsuruo T. Identification of actin as a substrate of ICE and an ICE-like protease and involvement of an ICE-like protease but not ICE in VP-16-induced U937 apoptosis. *Biochem Biophys Res*

Commun 217:1185–1192, 1995

141. Tan X, Martin SJ, Green DR, Wang JYJ. Degradation of retinoblastoma protein in tumor necrosis factor- and CD95- induced cell death. *J Biol Chem* 272:9613–9616, 1997.
142. Celebi A. Meme kanserli hastalarda CASP8 ve CASP9 gen polimorfizmlerinin araştırılması. Duzce-2011.
143. Cauwels A, Janssen B, Waeytens A, Cuvelier C, Brouckaert P. Caspase inhibition causes hyperacute tumor necrosis factor-induced shock via oxidative stress and phospholipase A2. *Nat Immunol* 4:387–393, 2003.
144. Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schroter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP [see comments]. *Nature* 388:190–195, 1997.
145. Deveraux QL, Reed JC. IAP family proteins—suppressors of apoptosis. *Genes Dev* 13:239–52, 1999.
146. Livingston DJ. In vitro and in vivo studies of ICE inhibitors. *J Cell Biochem* 64:19–26, 1997.
147. Hetz C, Vitte PA, Bombrun A, Rostovtseva TK, Montessuit S, Hiver A, Schwarz MK, Church DJ, Korsmeyer SJ, Martinou JC, Antonsson B. Bax channel inhibitors prevent mitochondrion-mediated apoptosis and protect neurons in a model of global brain ischemia. *J Biol Chem* 280:42960-70, 2005.
148. Fadeel B, Orrenius S, Zhivotovsky B. Apoptosis in human disease: a new skin for the old ceremony? *Biochem Biophys Res Commun* 266:699–717, 1999.
149. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 411:342–348, 2001.
150. Tsujimoto Y, Yunis J, Onorato SL, Erikson J, Nowell PC, Croce CM. Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(11;14) chromosome translocation. *Science* 224:1403–1406, 1984.

151. Michels J, Johnson PW, Packham G. Mcl-1. *Int J Biochem Cell Biol* 37:267–271, 2005.
152. Brimmell M, Mendiola R, Mangion J, Packham G. BAX frameshift mutations in cell lines derived from human haemopoietic malignancies are associated with resistance to apoptosis and microsatellite instability. *Oncogene* 16:1803–1812, 1998.
153. Sheikh MS, Burns TF, Huang Y, Wu GS, Amundson S, Brooks KS, Fornace AJ Jr, el Deiry WS. p53-dependent and -independent regulation of the death receptor KILLER/DR5 gene expression in response to genotoxic stress and tumor necrosis factor alpha. *Cancer Res* 58:1593–1598, 1998.
154. Schwartz D, Rotter V. p53-dependent cell cycle control: response to genotoxic stress. *Semin Cancer Biol* 8:325–336, 1998.
155. Oren M. Regulation of the p53 tumor suppressor protein. *J Biol Chem* 274:36031–36034, 1999.
156. Soung YH, Lee JW, Kim SY, Jang J, Park YG, Park WS, Nam SW, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. CASPASE-8 gene is inactivated by somatic mutations in gastric carcinomas. *Cancer Res* 65:815–821, 2005.
157. Schmitt CA, Lowe SW. Apoptosis and therapy. *J Pathol* 187:127–137, 1999.
158. Minn AJ, Rudin CM, Boise LH, Thompson CB. Expression of bcl-xL can confer a multidrug resistance phenotype. *Blood* 86:1903–1910, 1995.
159. Fulda S, Sieverts H, Friesen C, Herr I, Debatin KM. The CD95 (APO-1/Fas) system mediates drug-induced apoptosis in neuroblastoma cells. *Cancer Res* 57:3823–3829, 1997.
160. Medema JP, de Jong J, Peltenburg LT, Verdegaal EM, Gorter A, Bres SA, Franken KL, Hahne M, Albar JP, Melief CJ, Offringa R. Blockade of the granzim B/perforin pathway through overexpression of the serine protease inhibitor PI-9/SPI-6 constitutes a mechanism for immune escape by tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:11515–11520, 2001.
161. Banerjee D. Genasense (Genta Inc). *Curr Opin Investig Drugs* 2:574–580, 2001.

162. Tai YT, Strobel T, Kufe D, Cannistra SA. In vivo cytotoxicity of ovarian cancer cells through tumor-selective expression of the Bax gene. *Cancer Res* 59:2121–2126, 1999.
163. Costantini P, Jacotot E, Decaudin D, Kroemer G. Mitochondrion as a novel target of anticancer chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 92:1042–1053, 2000.
164. Lane PD, Lain S. Therapeutic exploitation of the p53 pathway. *Trends Mol Med* 8:38–42, 2002.
165. Rayet B, Gelinas C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 18:6938–6947, 1999.
166. Blagosklonny MV. Hsp-90-associated oncoproteins: multiple targets of geldanamycin and its analogs. *Leukemia* 16:455–462, 2002.
167. Schmitt CA, Lowe SW. Apoptosis is critical for drug response in vivo. *Drug Resist Updat* 4:132–134, 2001.

168. Serap KAYA, Mustafa Yaylacı; Kolorektal Kanserli Hastalarda Survivin Expresyonunun Sağkalım ve Histopatolojik Değişkenlerle İlişkisi, Kartal Dr.Lütfi Kırdar Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.İç Hastalıkları Kliniği – 2008.
169. Dario C. Altieri. Survivin in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. *Progress in Cell Cycle Research*, Vol. 5, 447-452, (2003)
170. N. Yamak, KO. Yaykaşlı, H. Soğuktaş, E. Yaykaşlı, M. Oktay, H. Erdem and et al. Investigation of survivin gene polymorphism in patients with gastric carcinoma *Dicle Med J Cilt / Vol 39, No 4, 499-503-2012*
171. E. AYNACI, E. COŞKUNPINAR, A. EREN, O. KUM, YM. OLTULU and et al. Investigation of the association of survivin gene -625G/C polymorphism in non-small cell lung cancer. *Journal of Cell and Molecular Biology* 10(1):27-32, 2012
172. Juncheng Dai, Guangfu Jin, Jing Dong, Yijiang Chen, Lin Xu, Zhibin Hu, Hongbing Shen, Prognostic Significance of Survivin Polymorphisms on Non-small Cell Lung Cancer Survival, *J Thorac Oncol.* 2010;5:11 1748–1754)
173. Span P. N., Sweep F. C. G. J., Wiegerinck E. T. G., Tjan-Heijnen V. C. G.,

Manders P., Beex L. V. A. M., and Kok J. B. D., Survivin is an independent prognostic marker for risk stratification of breast cancer patients, *Clinical Chemistry* 50:11, 1986–1993 (2004)

174. Chan H. Han, Qingyi Wei, Karen K. Lu, Zhensheng Liu, Gordon B. Mills, Li-E Wang, Polymorphisms in the *survivin* promoter are associated with age of onset of ovarian cancer, *Int J Clin Exp Med* (2009) 2, 289-299

EK. Etik Kurul Onayı



T.C.
TURGUT ÖZAL ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
TIP FAKÜLTESİ

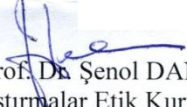
SAYI : 99950669/1017
KONU : Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı

08/10/2013

SAYIN DR. HÜSEYİN ŞAHİN

Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 04.10.2013 tarih ve 25 sayılı toplantısında sunulan “**Meme Kanserlerine Survivin Geni Polimorfizminin Etkisi**” başlıklı araştırma projesi öneriniz incelenmiş ve etik ilkelere uygun olduğuna oybirliğiyle karar verilmiştir.

Konu hakkında bilgilerinizi rica eder, çalışmalarınızda başarılar dilerim.


Prof. Dr. Şenol DANE
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanı

ADRES:

Çamlıca Mah. Anadolu Bulvarı No: 16/ A Gimat /ANKARA Tel: 0 312 397 72 60 Faks: 0 312 397 72 26
Web adresi: www.turgutozal.edu.tr - e-mail: bilgi@turgutozal.edu.tr