

# MEDICAL ONCOLOGY & PRINCIPLES OF CANCER BIOLOGY

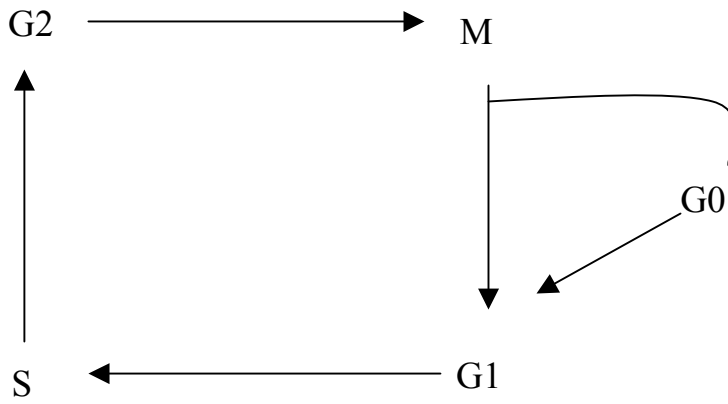
Barry B. Lowitz ve Dennis A. Casciato

## Kanser Biyolojisi ve Onkogenler: Ana bilgi

### I. Kanser biyolojisi: Genel özet

**A. Normal hücre çoğalmasının bazı özellikleri.** Normal dokularda, çoğalan hücre sayısı organizmanın ihtiyaçlarının bir fonksiyonudur. Azalmış hücre çoğalması veya artmış ölüm hızı herhangi bir aşırı artışı önler.

**1. Hücre siklusu** şekil 1.1'de görülmektedir.



**Şekil 1.1.** Hücre büyümesinin (siklusunun) fazları

Hücrenin kendine benzer iki hücreye çoğalması (replikasyonu) dış uyarılar sonucu biyokimyasal olarak başlatılan bir seri fazlardan geçer ve hem dış hem de iç büyüme faktörleri tarafından düzenlenir. Bazı onkogenler ve hücre siklusuna özgü proteinler hücre siklusu boyunca senkronize bir şekilde aktifleştirilir ve ardından inaktifleştirilir.

**a. G0 fazında (istirahat fazı),** hücreler genellikle spesifik bir işlevi görmek üzere programlanırlar.

**b. G1 fazında (ara faz, interfaz),** spesifik hücre fonksiyonları için gereken proteinler ve RNA sentezlenir. Geç G1 fazında bol miktarda RNA sentezlenir. Ayrıca, DNA sentezi için gereken birçok enzim üretilir.

**c. S fazında (DNA sentezi fazı)** hücre içindeki DNA'nın miktarı ikiye katlanır.

**d. G2 fazında** DNA sentezi durur, protein ve RNA sentezi devam eder, mitotik "spindle"ların mikrotübüller prekürsörleri üretilir.

**e. M fazında (mitozis)** protein ve RNA sentez hızı aniden yavaşlar, genetik materyal oluşan iki yeni hücreye dağılır. Mitozisi takiben oluşan yeni hücreler ya G0 ya da G1 fazına girerler.

**2. Siklinler.** Bunlar hücre siklusunun çeşitli fazlarını aktive eden spesifik proteinlerdir. Bölünme yeteneğine sahip çoğu normal hücre büyüme faktörleri, bazı hormonlar, ve hücre yüzey reseptörlerini etkileyen antijen- histokompatibilite kompleksleri gibi dış uyarılara karşı yanıt olarak bölünür. Bu hücre yüzey reseptörleri alınan sinyali iletir ve hücre bölünür. Tirozin kinazlar hücre dışı büyüme faktörlerinden nukleusa kadar olan bir kaskad (arka arkaya gelen bir dizi süreç) şeklinde ilerleyen proliferatif sinyal sürecinin çok önemli bir parçasıdır. Siklinler, kendilerine spesifik olan ve *siklin-bağımlı kinazlar* olarak adlandırılan tirozin kinazlarla kombine olurlar, onları aktifleştirirler, ve etkilerini düzenlerler. Hücre siklusunda

çeşitli fazlarda çeşitli siklinler sentezlenir, ve düzeyleri senkronize bir şekilde siklusun çeşitli fazları boyunca azalır ya da artar.

**3. Hücre siklusu kontrol noktaları (“checkpoints”).** Çoğalma kapasitesine sahip hücreler normal olarak belli kontrol noktalarında dururlar. Bunların en önemlileri, ilki DNA sentezinden hemen önce ve ikincisi mitozisden hemen öncedir. Bu histolojik olarak dinlenme periodları, olasılıkla siklin bağımlı kinazların ve tümör supressor proteinlerin aktivitelerinin azalmasıyla gerçekleşir. Gerçekde, bu fazdaki hücreler hücre siklusunun bir sonraki fazına girecek proteinleri sentezlediklerinden biyokimyasal olarak aktiftirler. Bu geçiş dönemlerinde (kontrol noktalarında), varsa genetik defektler düzeltilir. Sonuç olarak, hücre siklus boyunca ilerlerken iki kontrol noktasında durur ve kontrol edilmiş olur.

**a. Normal hücreler DNA sekansında oluşan hataları saptayan mekanizmalara sahiptirler.** DNA hasarlandığı zaman bir grup tamir mekanizması hasarlı nükleotidleri normal moleküllerle değiştirir. Bu mekanizmalar oluşan iki yeni hücredeki genetik materyalin ana hücredeki materyalle kesinlikle aynı olmasını sağlarlar.

**b. İlk kontrol noktası** geç G1 fazında, S fazına girmeden hemen önce gelir. DNA sentezi için uygun ekstrasellüler sinyaller ve tüm mekanizma işler durumda olsa bile, hücrenin G1 fazını terketmeden önce DNA'nın doğru (hasarsız) bir durumda olması lazım. Eğer herhangi bir lezyon saptanırsa, hücreler ya hasarı onarır ya da apoptozise giderek ölürlür. Bu kontrol noktası p53 proteinin etki yerlerinden biridir (bkz. Kısım II.C.2).

**c. İkinci kontrol noktası** hücreler M (mitozis) fazına girmeden hemen önce gelir. Hücre siklusu inhibitörleri, hücreyi, yeni oluşacak hücrelerin doğru genetik kopyaya sahip olacaklarından emin oluncaya kadar durdurur. DNA replikasyonu tamamıyla ve doğru şekilde tamamlanamamışsa, veya beraberindeki tüm proteinler, iplikçik materyalleri, ve mitozisin tamamlanması için gerekli diğer tüm maddeler eksiksiz olarak tamamlanamamışsa hücre bu kontrol noktasında herşey başarıyla düzenleninceye kadar durur ve ardından M fazına girer.

**4. Normal hücre popülasyonunun küçük bir miktarı ölümsüz (sınırsız sayıda çoğalabilen, “immortal”) hücrelerdir.** Bu hücreler organizmanın diğer kısımlarından gelen sinyallerin etkisiyle kendilerini yenileme ve ayrıca olgunlaşan ve organizmanın gerekli fonksiyonlarını görmek üzere diferansiye olabilen yeni hücreler oluşturma yeteneğine sahiptirler. Sadece birkaç doku tipi diferansiye olabilmesine rağmen, çoğu hücre tipi diferansiye olurken “vitality”lerini kaybederler, yaşlanıp istirahat “senescence” fazına girerler, ve sonunda ölürlür. Ökaryotlarda aşağıdaki gibi 4 hücre popülasyonu bulunur.

**a. Germ hücreleri.** Sınırsız sayıda çoğalabilme yetenekleri vardır. Bunun nedeni olasılıkla, mayozisle bölünmeleridir. Kanser hücrelerinin aksine, bu hücreler ölümsüz hücre dizisi oluşturmak üzere mayoz bölünmeye girmelidirler.

**b. Stem (kök) hücreleri.** İki işlevleri vardır. Birincisi, tekrar oluşmak (çoğalmak). İkincisi ise diferansiye olmak ve böylece organizma için gerekli özgün işlevleri yerine getirmek. Kanser hücrelerinin aksine, bu hücrelerin tekrar oluşmak üzere girdikleri siklus sayısı sınırlıdır.

**c. Kısmen diferansiye olmuş hücreler.** Bunlar da sınırlı sayıda çoğalma kapasitesine sahiptir ve kendilerinden oluşan yeni hücreler sonunda tam diferansiye ve çoğalma yeteneği olmayan hücreler haline gelirler.

**d. Tam olgunlaşmış özelleşmiş hücreler.** Bunlar bir daha çoğalamazlar.

**5. Diferansiyasyon immortalite (ölümsüzleşme) ile ters ilişkilidir.** İmmortal kanser hücresi dizilerinin aksine, diferansiye olmuş normal hücreler, hücrelerin ne sayıda bölündüğünü sayan biyolojik bir saate sahiptir. Belli bir sayıya ulaşıldığında hücre artık daha fazla bölünemez. Örneğin, insan fibroblast hücreleri hücre kültürlerinde yaklaşık 50 kez bölünür. Sonra, beslenme koşulları ne olursa olsun bir daha bölünemez (bkz. Kısım I.B.2).

**B. Kanser hücrelerinin karakteristik özellikleri.** Kanser, hücrelerin sürekli olarak birikmesi ile karakterize bir düzen bozukluğudur. Bu durum, sürekli çoğalarak aşırı miktarda artan hücre sayısının normal olarak gerçekleşen uygun miktarda hücre kaybıyla dengelenmemesi

sonucu gerçekleşir. Bu hücreler invazyon yaparlar ve organizmanın organlarını hasara uğrattırır. Kanser hücreleri kaynaklandıkları normal hücelere göre daha kısa zamanda ölmelerine rağmen yeni hücre oluşumu o kadar hızlıdır ki, sonuçta hüceler devamlı birikir. Bu dengesizlik (aşırı hücre birikimi), hem kanser hücrelerindeki genetik anormalliklerden hem de organizmanın bu hüceleri tanımada ve yok etmedeki başarısızlığından dolayıdır.

**Kanser hücrelerinin bazı eşsiz “unique” özellikleri şu şekildedir.**

**1. Klonal orijin.** Çoğu kanser hücresi tek bir anormal hücreden doğar. Bazı kanserler birden fazla sayıda malign klonlardan doğar. Bu klonlar ya bir saha hasarı “field defect” sonucu (dokunun birden fazla sayıda hücresi karsinojene maruz kalmasıyla) ya da bazı genlerdeki kalıtsal defektler sonucu oluşurlar.

**2. İmmortalite.** Çoğu normal hücrenin bölünme sayısı sınırlıdır. Kanser hüceleri ise sınırsız sayıda bölünürler (çoğalırlar) ve bitmez tükenmez miktarda hücre oluştururlar. İmmortalitenin mekanizmalarından biri kromozom uçları olan telomerlerdir. Hücre diferansiye olurken, çoğu normal hücre tipinde telomerler gittikçe kısalır. Fakat, kanser hücelerinde ve stem hücelerde telomerler telomeraz enziminin etkisiyle yenilenirler. Bu enzim normal olarak hüceler diferansiye olurken bir taraftan programlı bir şekilde gittikçe azalır. Tamamıyla diferansiye olmuş bir hücre istirahat “senescent” durumuna girer ve sonunda çoğalma kapasitesini yitirdiğinden ölür. Oysa, birçok kanser tipinde telomeraz etkinliğini sürdürür veya aktive edilir. Sonuçta, telomerlerin uzunluğu sabit kalır ve hücre sınırsız sayıda çoğalır (immortal kalır).

**3. Genetik instabilite.** Bu durum, DNA tamirindeki ve DNA “mismatche”lerini tanımadaki defektlerden dolayıdır ve kanser hücelerinin heterojen olmasına yol açar. Kanser hüceleri proliferasyon kontrol mekanizmalarına gittikçe daha az yanıt veren klonlar oluştururlar. Bu klonların ayrıca yabancı ortamlarda yaşama yeteneği de gittikçe artar ve böylece metastaz yaparlar.

**4. Kontakt inhibisyonun ve substratuma tutunarak büyüme özelliklerinin kaybı.** Kültür ortamında büyüyen normal hüceler hücelerin normalde yapıştığı substratuma yapışamazlarsa bölünemezler. Normal hüceler çoğalıp üzerinde büyüdükleri tüm yüzeyi tek tabaka halinde (“monolayer”) doldurduklarında (konfluent hale geldiklerinde) da bölünme özelliklerini kaybederler. Hatta besiyerleri bölünmeleri için gerekli tüm büyüme faktörleri ve diğer besin elemanlarını (nütrientleri) ihtiva etse bile bölünmezler. Kanser hüceleri ise, yarıkatı bir besiyerinde substratuma yapışmaya gereksinim duymadan bağımsız olarak bölünmeye (büyümeye) devam edebilirler. Hatta, hücre kültürlerinde birden fazla tabaka oluşsa bile büyüme devam edebilirler.

**5. Proliferasyonun büyüme faktörlerinden ve nütrientlerden bağımsız olarak devamlı artışı.** Bu durum kültür ortamındaki kanser hücelerinin bir özelliğidir. Kanser hüceleri beslenmeleri için gerekli besin faktörlerini tüketmelerine rağmen büyüme devam ettiklerinden aslında kendi kendilerini öldürmektedirler. Birçok hayvan türünün de bu şekilde davranması ilginçtir.

**6. Metastaz.** Benign tümörlerde veya normal hücelerde bulunmayan bir özelliktir. Metastaz, ekstrasellüler matrikse yapışmaktan sorumlu hücrel proteinlerin kaybı yada anormalliklerinden, hüceler arası interaksiyonun bozukluğundan, hücelerin bazal membrana tutunmalarındaki anormalliklerden, bazal membranın üretimindeki anormalliklerden, metaloproteaz gibi bazı enzimlerle (kolejenazlar) bazal membranın yıkılmasından dolayı gerçekleşir. Sorumlu proteinler keşfedildikçe ve onların mekanizmaları aydınlatıldıkça metastatik süreç daha iyi anlaşılacaktır.

## **II. Aşırı kanser hücresi üretiminin nedeni**

**A. Anormal hücelerin apoptozise gidememesi.** Apoptozis, programlı hücre ölümü demektir.

**1. Apoptozis anormal DNA'lı hücreleri yok eder.** Anormal DNA'lı hücreler ya tamiri olanaksız DNA hasarı oluşmuş ya da yanlış, eksik veya gereksiz olarak fazla transkrip olmuş DNA'dan dolayı oluşur. Buradaki apoptozis, belli bir tür için gerekli kromozom sayısının uygun miktarda devam ettirilmesinde ve aneploidinin önlenmesinde ana mekanizmadır. Böylece, DNA'sını sadece doğru bir şekilde ve tam olarak replike etmiş hücrelerin mitozise girmesi sağlanır.

**2. Apoptozis normal doku kaybından sorumludur.** Bunun klasik örneği "tadpole" kuyruklarının kaybolmasıdır. Apoptozis ayrıca primatlarda embriyogenez döneminde var olan parmaklar arası perdelere kaybolmasından da sorumludur. Apoptozis yaşlanmış ve yararsız hale gelen normal hücrelerin ortamdaki yok edilmelerini (eliminasyonlarını) sağlar. Apoptozis organizmanın kendi dokularını tanıyan T hücrelerinin eliminasyonunda da rol alır. Böylece, bu hücrelerin organizmaya karşı immun atağı önlenir.

**3. Apoptotik hücreler mikroskopik olarak tanınabilir.** Bu hücrelerde intrasellüler organeller biraraya toplanırlar. Nucleus yoğunlaşır (kondens hale gelir) ve fragmanlara ayrılır. Hücreler apoptotik cisimciklere ayrıldığında, bu cisimcikler fagositozla komşu hücreler ya da makrofajlar tarafından alınır. Nekrozisin tersine, apoptozis inflamatuvar reaksiyona yol açmaz. Apoptozisde evrim sürecinde korunan bazı spesifik proteinlerin sentezi gerçekleşir.

**4. Kanser hücreleri.** Kanser hücreleri ve bazı immun sistem hücreleri normal dokularda apoptozisi anormal olarak indükleyen maddeleri üretirler (ve malign durumlarda görülen kaşeksiye yol açabilirler). Apoptozis genetik olarak düzenlenir ve malign hücrelerde bozulabilir. Örneğin, p53 tümör süpressör onkogeni apoptozisi uyarır. Bcl-2 onkogeni ise apoptozisi inhibe eder. Böylece, normal hücre ölümünü yavaşlatarak aşırı hücre birikmesine yol açar. Apoptozis tümör hücrelerinin hormonlar, sitotoksik kemoterapi, ve radyasyon terapisiyle azaltılmasında (yok edilmesinde) ana mekanizma olabilir. Apoptozisten ayrıca bölüm 4 kısım II.A'da kemoterapinin mekanizmasında da bahsedilmiştir.

**B. Hücre proliferasyonunu anormal şekilde uyarıcı genetik bozukluklar.** Bu bozukluklar normal proliferasyon mekanizmasından bağımsız olarak oluşur. Reseptörlerin veya sinyal aktarıcı proteinlerin mutasyonları veya aşırı üretimleri hücrelerin büyüme faktörlerinden veya diğer mitotik faktörlerden bağımsız hale gelmesine ve böylece kendi başına giden hücre bölünmesine yol açarlar. Bu gen anormallikleri genellikle dominanttır (örn. anormal hücre ile hibridlenen bir normal hücre fenotipik olarak malign hale gelir).

**C. Tümör süpressör genlerdeki anormallikler.** Bu genler hücre bölünmesinin (siklusunun) baskılanmasından sorumlu genlerdir. Bozuklukları halinde organizma genetik olarak anormal hücreleri yok edemediğinden kanser gelişir. Bu genler resesifdir; yani malign hücre normal hücre ile hibridleştirildiğinde normalleşir.

**1. Kalıtsal tümörler.** Retinoblastoma geni (*RBI*) bu genler arasında ilk keşfedilen genidir. Ardından, özellikle sık rastlanmayan veya nadir kalıtsal hastalıklarda olmak üzere diğer süpressör gen anormallikleri de saptanmıştır. Wilm's tümörü (*WT1*), familyal polipozis (*APC*), familyal melonoma (*CDKN20*), ve familyal meme ve over kanserleri (*BRCA-1* ve *BRCA-2*) diğer süpressör gen anormalliklerine örnek olarak verilebilir.

**2. p53 süpressör gen.** Bu genler içinde en önemli gen p53 süpressör genidir. Bu genin ürünü olan p53 proteini birçok kompleks aktivitesi olan ve hücre siklusunu baskılayan bir proteindir. Bu protein nükleotid "mismatche"leri, DNA sarmalının kırıkları gibi DNA lezyonlarını ve ayrıca radyasyon veya kemoterapi ile oluşan DNA hasarlarını saptayabilir.

**a.** DNA lezyonu saptandığında, p53 hücre siklusunu G1 fazında durdurur, böylece hücrenin S fazına girişini önler. Ardından, ya tamir mekanizması proteinlerini ya da apoptozise yol açan proteinleri indükler.

**b.** İn vitro çalışmalar, kemoterapi ve radyasyonun kanser hücrelerini DNA hasarı yaratarak ve böylece p53'le indüklenen apoptozise yol açarak öldürdüklerini göstermiştir. p53 proteininin

eksik olduğu fare timositlerinde ve istirahat halindeki (resting) lenfositlerde radyasyonun bu öldürücü etkisi görülmez ve hücreler canlılığını sürdürür.

**c.** Birçok insan kanserlerinin mutant *p53* süpressör genine sahip olduğu bulunmuştur. Mutant *p53*, Li-Fraumeni sendromunun karakteristik bulgusudur. Bu sendrom, hem yumuşak doku hem de epitel kaynaklı kanserlerin birçok organda görüldüğü ve erken bir yaşta başladığı herediter otozomal dominant bir sendromudur.

**D. Tümör anjiogenezi.** Kan desteği olmayan kanser kolonileri çap olarak 1 mm'den daha fazla büyümeyebilir. Yeterli kan desteği olmayan koloniler istirahat halinde değildir (yani hücre siklusunun G0 fazındaki gibi değildir): bu durumdaki koloniler tipik olarak daha hızlı proliferasyon olurlar fakat artmış proliferasyon hızına kompensatuar olarak hücre ölümü de artar. Kan akımı sağlandıktan sonra, hücre ölüm hızı azalır ve tümör hızla büyür.

**1. Yeni kan damarlarının oluşumu (anjiogenezi) için bazı maddeler gereklidir.** Bu durum normal dokularda böyledir. Fakat, hemen hemen tüm ölçülebilir kanserlerde bu maddelerin sadece biri üretilir. Bu faktörün adı *vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF)*. Bu faktör yeni kan damarlarının oluşumunu indükler. VEGF bazı ilginç özelliklere sahiptir. Aşağıda belirtilen bu özellikler kanser tedavisinde faydalı olmaktadır.

**a.** VEGF, olgunlaşmış ve proliferasyon olmayan kan damarı endotel hücrelerinde kendi reseptörlerini indükler. Bu normal, istirahat halindeki endotel hücrelerinin VEGF reseptörü yoktur ama VEGF'ye maruz kaldıklarında reseptörü üretirler.

**b.** VEGF, kan damarlarının oluşumuna yol açan diğer birçok büyüme faktörünün üretimini ve aktivitesini indükler.

**c.** VEGF, *c-ras* ve VEGF üretimini daha ileriye götüren diğer onkogen ve büyüme faktörleri tarafından indüklenir.

**d.** Normal gelişim için diğer faktörlere de gereksinim duyan normal kan damarlarının aksine, VEGF tarafından indüklenen kan damarları sızdırma özelliğine sahiptir. Örneğin, fibrinojen gibi VEGF ile indüklenen plazma proteinleri yeni oluşan damarlardan dışarı sızarlar. Böylece, tümörün etrafında süngerimsi bir jel oluşur. Bu jel VEGF içerir: bu durum anjiogenezi daha da ilerletir.

**e.** VEGF'nün, indüklenmiş epitel hücrelerinde apoptozisi baskıladığı görülmektedir.

**2. Tümörler ayrıca anjiogenezi inhibitörleri de içerirler.** Bu inhibitörler uzak bölgelerdeki tümörlerin büyümelerini azaltır. Murin akciğer kanserinin bir formu bu gibi inhibitörleri içeren ve böylece primer odağın büyümesini yavaşlatan metastazlara yol açar. Bu mekanizma metastazla birlikte seyreden primer tümörlerin lokalize edilmesindeki güçlüğü ve primer tümörün bulunamadığı durumları (orjini bilinmeyen primer tümörleri) açıklayabilir.

### III. Malign transformasyon

Onkogenler normal hücrelerin malign transformasyonuna neden olan genler demektir. Her zaman malignensi ile ilişkilidirler ve ya hücresel ya da retroviral orijinli olabilirler. Genel olarak, kanserde birden fazla onkogen anormal olarak aktiftir. Hücre bölünmesi için gerekli olan, onkogenler arasındaki çok çeşitli interaksiyonlar tipik olarak bu interaksiyonlar olmasa normal kalacak olan birçok diğer onkogenin aktifleşmesine neden olur. Çoğu kanserler ile tek bir onkogen anormalliği arasındaki bire bir ilişki genellikle saptanamaz.

#### A. Tanımlamalar

**1. Retroviral onkogenler (*v-onc*)** hayvan tümörlerinden elde edilmiş hızla transforme edici retrovirüslerde ilk olarak keşfedilmişlerdir. Bu tip yaklaşık 20 çeşit onkogen tanımlanmıştır.

**2. Hücresel onkogenler** kanser hücrelerinden DNA elde edildikten sonra, bu DNA'ların normal hücrelere sokulması ve böylece hücrelerin malignleşmesi (DNA transfeksiyonu) yoluyla keşfedilmişlerdir. Bu çeşit 20'den fazla onkogen tanımlanmıştır.

**3. İnhibitör genler** hücre proliferasyonunu inhibe eden proteinleri üretirler. Bu genlerdeki anormallikler anormal hücre proliferasyonuna yol açar. Yaklaşık 12 gen tanımlanmıştır.

**4. Proto-onkogenler** (*c-onc* veya normal hücre genleri) normal hücrelerde proliferasyon ve diferansiyasyonu kontrol ederler. Bunların bilinen tüm onkogenlerin kaynağı olduğu düşünülmektedir. Bu fikre bir kanıt olarak, transforme edici retrovirüslerden elde edilen RNA'nın çeşitli proto-onkogenlerle homoloji göstermesi verilebilir.

**a.** Proto-onkogenler evrim boyunca iyi korunmaktalar. Birçok aynı onkogen insanlardan mayalara kadar çok çeşitli canlılarda bulunabilmektedir. Bu durum, hayatın temel özelliği gibi görünmektedir.

**b.** Herbir proto-onkogen, hücre siklusu sürecinde veya belli bir dokunun gelişiminin spesifik bir döneminde farklı olarak eksprese edilen protein ürünlerini yaparlar.

**5. *c-onc* ve proviral *v-onc* arasındaki farklılıklar.** Hücresel onkogenler hem intronlara hem de ekzonlara sahipken, viral onkogenler sadece ekzonlara sahiptir. Viral DNA, güçlü promotor genler olan LTR'lere sahiptir fakat bunlar *c-onc*'larda bulunmaz. LTR'ler *c-onc* yakınlarında biryere sokulduklarında *c-onc*'un regülasyonunu bozarlar ve hücreyi malign fenotipe dönüştürürler.

**B. Sinyal iletiminin basamakları.** Onkogen biyolojisini anlamak.

**1. Basamak: Büyüme faktörleri.** Hem proto-onkogen hem de nonproto-onkogen kaynaklı büyüme faktörleri, hedef hücrelerdeki spesifik büyüme faktörü reseptörlere (GFR) bağlanırlar. Böylece, bu reseptörler üzerindeki tirozin kinaz aktivitesi aktifleşir. Büyüme faktörü-GFR kompleksi hücreler tarafından alınır ve inaktifleştirilir. Büyüme faktörlerinin bazıları ve ilişkili proto-onkogenleri şunlardır: fibroblast büyüme faktörü için *Int-2* ve *diğerleri*, trombositlerden salınan büyüme faktörleri için *sis*.

**Örnek: *sis* onkogeni**

**a. Normal fonksiyonu:** *sis* onkogeni trombositlerden salınan büyüme faktörü (PDGF)'nin zincirlerinden birini kodlar. PDGF megakaryositlerde üretilir ve trombositlerde depolanır. Trombositler aktifleştiklerinde, PDGF'yi salıverirler. Böylece PDGF'nin hücrelerdeki yüzey reseptörleri aktifleştigiğinden tirozin kinaz aktivitesi ortaya çıkar. PDGF bu mekanizmayla fibroblastların proliferasyonunu da uyarır.

**b. Kanser hücrelerindeki anormallikler.** Genin ektopik lokalizasyonu, olasılıkla amplifikasyonu, ve proteinin kısmi kaybı sonucu gerçekleşen düzensiz üretimidir.

**c. İnsanlardaki ilişkili kanserler.** Bunların bazıları, skuamöz hücreli kanserler, glioblastomalar, akut miyelojenik lösemi, ve osteosarkomdur. *Sis* onkogeni olasılıkla HTLV-1 tarafından aktive edilir.

**d. Anormalliklerin prognoz üzerine etkisi.** Hiçbirisi de bilinmemektedir.

**2. Basamak: GFR'ler** ve bazı hormon reseptörleri hücre membranında bulunan ve bir kısmı membran içinde bir kısmı membran dışında/içinde olan proto-onkogen proteinlerdir. Proteinin hücre yüzeyindeki parçasında spesifik ekstrasellüler büyüme faktörleri için bölgeler bulunur. GFR'ler kendilerine özgü büyüme faktörleri ile aktive edildiklerinde, bu reseptörlerin sitoplazmik bölgeleri aktif tirozin kinaz haline gelir. Bazı GFR'ler ve onların proto-onkogeni, koloni uyarıcı faktör reseptörü tip 1 (*fms*) ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (*erb-B*)'dir. Aktifleşen tirozin kinazlar ekstrasellüler sinyali bazı mekanizmalarla sitoplazmik proteinlere ve nükleusa aktarırlar. Örneğin, sitoplazmik proto-onkogen proteinleri aktive ederler. Ayrıca, diaçilgliserol düzeylerini artırır, bu daha sonra protein kinaz C'nin (PKC) aktivasyonuna neden olur. PKC ise, DNA sentezini uyarıcı bir grup proteini aktive eder. Aktif tirozin kinazların başka bir fonksiyonu, guanozin-5-difosfatı (GDP), guanozin trifosfat (GTP)'a çevirmek üzere fosforile etmeleridir. GTP, p21'i (bir *c-ras* proteini) aktive eder: aktifleşmiş GTP-p21 kompleksi ise nükleusda DNA transkripsiyonunu uyarır.

**Örnek: *erb-B* onkogeni** (diğerleri: *fms*, *ros*, *sea*)

**a. Normal fonksiyonu.** *erb-B*'nin hücrel proto-onkogeni, epidermal büyüme faktörü (EGF) için hücre yüzey reseptörü üretir ve EGF ile interaksiyona girdiğinde (aktifleştirildiğinde) tirozin kinaz aktivitesi gösterir.

**b. Kanser hücrelerindeki anormallikler.** *erb-B* gen ürünü düzensiz protein kinaz aktivitesi olan ve kısmen eksik bir üründür. Bu eksik ürün hücreye devamlı olarak bölünme sinyali gönderir.

**c. İnsanlardaki ilişkili kanserler.** Skuamoz kanserler ve glioblastomalar.

**d. Anormalliklerin prognoz üzerine etkisi.** Meme, üst solunum sistemi, ve uterin serviks kanserli hastalarda eğer ekspresyonu artmışsa sürvi kötüdür.

**3. Basamak: Sitoplazmik kinazlar.** Anahtar hücrel enzimlerin aktivitesini düzenleyen bu kinazlar membran reseptör kinazlar tarafından aktifleştirilirler. Bu proteinler tipik olarak serin veya treonin kinaz fosforile edici aktiviteye sahiptir ve bazıları ise GTPaz aktivitesine sahiptir. Bu kinazlar nükleus proteinlerini ve DNA promotor bölgelerini aktive etmede geniş bir etki spektrumuna sahiptir. Örneğin, hücre bölünme fazı kinaz (*cdc*)'ları tüm ökaryotik hücrelerde bulunur ve hücrelerin G2 fazından M fazına geçişi için şarttır. Siklinler ve fosforilasyon, bu kinazların aktivitelerini düzenler: bunların ayrıca mitozise hazırlık safhasında hücre iskeletinin destabilizasyonunda rol aldıkları görülmektedir.

**Örnek: *ras* onkogeni** (diğerleri *raf*, *mos*, *src*, *yes*, *fps*, *abl*, *crk*, *cdc*)

**a. Normal fonksiyonu.** *c-ras* proteinlerinin proto-onkogen prekürsörleri sinyalleri hücre yüzeyinden nukleusa iletirler. Bu proteinler GDP ve GTP ile birleşirler. Protein-GTP kompleksi (örn. p21-GTP) kimyasal olarak aktif formdur ve bu form nukleusdaki çeşitli promotor proteinleri aktive eder. Bu proteinler GTPaz aktivitesine sahiptir. Bu aktivite, GAP olarak isimlendirilen bir sitoplazmik protein tarafından arttırılır. GTPaz GTP'yi GDP'ye dönüştürür, böylece yukarıda söz edilen kompleks (Protein-GTP ) inaktifleşir. Bu fenomenin, bu proteinlerin kendilerini düzenledikleri bir aktivite olduğu düşünülmektedir. Ras proteini ayrıca diaçilgliserol düzeylerini de arttırır, bu da protein kinaz C'yi (PKC) aktifleştirir. PKC ise bilindiği gibi önemli bir DNA transkripsiyon başlatıcısıdır.

**b. Kanser hücrelerindeki anormallikler.** Ras onkogenleri birbirleriyle ilişkili beş onkogenden oluşan bir gruptur. Aktivitelerinin çoğu kendilerinin proto-onkogenlerinin normal aktiviteleridir. Birkaç defekt saptanmıştır. Bunlardan biri bozuk GTPaz'dır. Bu anormallik molekülün GTP formunun devamlı olarak aktif kalmasına yol açtığından nukleus proteinleri ve DNA transkripsiyonu devamlı olarak aktive edilir.

**c. İnsanlardaki ilişkili kanserler.** AML, bazı melanomalar, nöroblastomalar, meme kanseri, mesane kanseri ve akciğer kanseridir.

**d. Anormalliklerin prognoz üzerine etkisi.** AML'li hastalarda prognoz kötüdür.

**4. Basamak: Gen ekspresyonunu doğrudan kontrol eden proteinler (transkripsiyon faktörleri).** Bu faktörler sinyal iletiminin son safhasında yer alırlar. Bunların bazıları kısa ömürlüdür ve asla nukleusdan dışarı çıkmazlar. Örneğin, *c-jun* ve *c-fos* proteinleri G0-S interfazında transkripsiyonu yapılan ilk proteinlerdendir ve hücre siklusunu başlattıkları görülmektedir. Siklinlerin, hücrenin hücre siklusuna ve ayrıca *c-myc* ve *c-mos*'un transkripsiyonunu aktifleştirerek de mitozise girmesini başlattığı düşünülmektedir. *c-myc* ve *c-mos*'dan transkripsiyonu yapılan proteinler (*c-myc* ve *c-mos* proteinleri) ayrıca nukleusda da daimi olarak bulunurlar ve burada DNA sentezini uyaran kompleksler oluştururlar. Sitoplazmadan nukleusa giren diğer faktörler (örn. *ras*, *myc*): bunların transkripsiyonu ve aktifleştirilmesi sitoplazmik kinazlar tarafından yapılır (bkz. 3. basamak). Proto-onkogen kinazların sitoplazmadaki birkaç normal ürünü ayrıca gen transkripsiyonunu da aktive eder. Özellikle PKC aktifleştirilir. PKC, direkt olarak bir DNA promotoru olarak etki ederek *c-jun*

ve c-fos proteinlerinin üretimini uyarır. Jun-Fos kompleksi, DNA'nın spesifik promotor bölgelerine bağlanır ve DNA transkripsiyonunu uyarır.

**Örnek: c-myc onkogeni** (diğerleri *jun, fos, erb-A, rel, ski, myb*)

**a. Normal fonksiyonu.** *c-myc* onkogenleri direkt nükleus düzenleyici aktivitesi olan bir protein ailesidir. *myc*'nin varlığı hücre bölünmesi için gerekli gibi görünmektedir. DMSO (dimetilsulfoksit) *myc*'nin transkripsiyonunu inhibe eder, hücre bölünmesini durdurur, ve kültür edilmiş lösemik blast hücrelerinin diferansiye olmasına neden olur. Yüksek *c-myc* düzeyleri immatür kan hücrelerinde ve gastrointestinal hücrelerde bulunur. Hem *c-myc* hem de *c-jun/c-fos* protein ürünleri dimerler oluştururlar. Bu dimerler, promotor genlere bağlanma bölgesine yakın bir yerdeki "leucine zipper" adı verilen lösinden zengin bir bölgede birbirine bağlanırlar.

**b. Kanser hücrelerindeki anormallikler.** *c-myc* geninin amplifikasyonu öyle verimlidirki birçok kopya bazen kromozom üzerinde kalır. Ekstrakromozomal DM'ler böyle aşırı derecede gerçekleşmiş amplifikasyonun görünür bir kanıtı olarak mikroskopik olarak gözlenebilir.

**c. İnsanlardaki ilişkili kanserleri.** Burkitt lenfoma, B hücreli lenfomalar, promyelositik lösemi, nöroblastoma, küçük hücreli akciğer kanseri, ve kolon kanseri.

**d. Anormalliklerin prognoz üzerine etkisi.** Nöroblastomada prognoz, *N-myc* (*myc* gen ailesinin nöroblastomadaki üyesi) ile direkt orantılı olarak kötüdür.

**5. Basamak: Büyümei inhibe edici genler.** Bu genlerin ürünleri, büyümei hızlandırıcı onkogen ürünlerini inhibe eden ve hücre proliferasyonunu durduran maddelerdir. Tipik olarak fosfatazlardır. Bu genlerin inaktivasyonuna yol açan mutasyonlar kontrolsüz hücre proliferasyonuna (artmış hücre çoğalmasına) ve malignensilere yol açar. Bu mutasyonlara ve ilişkili tümörlere örnek olarak *RBI* (retinoblastoma ve bazı osteosarkomlar), *WT1* (Wilm's tümörü), *MEN1* (Multipl endokrin neoplazi), ve *FAP1* (Kolonun familyal adenomatöz polipozisi).

## IV. Temel bilgiler için sözlük

### A. Moleküler biyoloji terminolojisi

**Amplifikasyon:** Bir genin çok sayıda kopyasının yapılmasıdır. Bu durum büyümenin (gelişmenin) bazı fazlarında normal olarak oluşur fakat *c-myc* gibi bir genin transkripsiyon kontrolünü kaybettiği hallerde de oluşabilir.

**Antisens nükleotidler:** Bir genin ya da mRNA'nın protein kodlayan sekansına komplementer olan DNA ya da RNA sekansıdır. Antisens nükleotidler DNA veya RNA'nın spesifik kodlayan sekansına bağlanırlar ve transkripsiyon veya translasyonu bloke ederler. Antisens nükleotidler ayrıca moleküler proplar (işaretleyiciler) olarak da kullanılırlar.

**"Breakpoint cluster regions, BCRs":** Genomda kromozom translokasyonlarının oluşmasının olası olduğu ve sıklıkla bir protoonkogene yakın yerleşimli bölgeler. Kronik miyeloid lösemide (CML), 22. kromozomun *sis* onkogeni yakınındaki bir BCR parçası *abl* geninin bulunduğu 9. kromozomun bir parçası ile yer değiştirir ve böylece Philadelphia kromozomu oluşur. Normal c-abl proteini, tirozin kinaz aktivitesi olan bir membran proteini. Fareler yeni *abl-bcr* füzyon genini içeren retrovirüslerle infekte edilirse bu hayvanlarda CML oluşmaktadır.

**Diferansiyasyon antijenleri ("Clusters of differentiation, CD"):** Bu antijenler lökositlerin yüzey membranlarında bulunurlar ve lökosit dizileri diferansiye oldukça değişiklik gösterirler. Lökosit tipi ve diferansiyasyon dereceleri monoklonal antikolar kullanarak bu antijenlerin belirlenmesiyle saptanabilir. Malign lökositler üzerindeki bu antijenlerin belirlenmesi hematopoetik malignensilerin teşhis ve prognozunda faydalıdır (bkz. Ek C-5).

**Kodon:** Bir aminoasidi kodlayan bir 3'lü nükleotid veya RNA translasyonu esnasında bitiş kodu.

**Komplementer DNA veya RNA:** Kodon dizeleri (sekansları) birbirinin ayna görüntüsü olan RNA veya DNA dizeleri. Komplementer dizeler birbirine bağlanırlar. Bilinen bir RNA veya DNA, kendisinin komplementerinin aranmasında moleküler prob (işaretleyici) olarak kullanılabilir. Bağlanma derecesi komplementer nükleotidlerin birbirinin ne kadar iyi ayna görüntüsü olduğunun bir ölçütüdür.

**Kromozomların rearanje olması (“rearrangement”):** Büyümeyi kontrol eden genleri değiştiren böylece malignitelere yol açan çeşitli inversiyonlar, translokasyonlar, ve gen ilaveleridir. Bu rearanjmanlar belli bir tip malignite için spesifik olabilir.

**Siklinler:** DNA sentezini uyanan *c-myc* ve *c-mos* onkogenlerinin transkripsiyonunu aktifleştirerek hücrelerin hücre siklusuna girmesini sağlayan proteinlerdir.

**“Double minutes, (DMs)”:** Sentromeri olmayan ve ışık mikroskopunda görülebilen küçük, ekstrakromozomal DNA globlarıdır. Sıklıkla, transforme olmuş hücrelerdeki anormal gen amplifikasyonlarını gösterirler.

**DNA:** Deoksiribonükleik asit.

**DNA polimeraz:** Komplementer DNA dizelerine birbirine paralel olarak deoksiribonükleotidleri sokan bir grup enzimdir. Bu polimerazların bir kısmı DNA replikasyonu için kullanılırken diğerleri de DNA tamiri için kullanılmaktadır.

**Ekzonlar:** Bir gendeki polipeptidleri (proteinleri) kodlayan dizeler.

**Gen:** Tek bir çeşit polipeptidi kodlayan bir DNA dizesi. Normal hücre genleri ayrıca ana dize içinde çeşitli yerlere dağılmış olarak alt-dizeler (intronlar) içerir. Fakat intronlar polipeptidleri kodlamadıklarından protein yapımında kullanılmazlar.

**Heterojen nükleer RNA dizeleri:** Çeşitli boyutlarda nükleer RNA dizelerinden oluşan bir karışım. Bu RNA'ların çoğu, mRNA oluşumu için intronların hızla kaybedildiği süreçte yer alan primer RNA transkriptlerinden oluşur.

**Homolog dizeler:** Aynı veya komplementer nükleotid dizelerine sahip farklı RNA veya DNA nükleotid kısımlarıdır.

**Hibridoma:** Spesifik bir monoklonal antikor üreten bir hibrid hücredir. Hibrid hücreler antikor üreten normal fare lenfositleri ile antikor üretmeyen immortal fare plazmasitoma hücrelerinden oluşturulur. Lenfositler, örneğin insan lökositleri gibi yabancı antijenlere maruz bırakılmış farelerin dalağında elde edilir. Herbir dalak lenfositi bir yabancı antijene karşı antikor üretir. Bu lenfositler replike olmazlar fakat toksik bir besiyerde yaşayabilirler. Tersine, plazmasitoma hücreleri replike olabilirler ama toksik besiyerde yaşayamazlar. Hibrid hücreleri ise spesifik antikorları üretirler, ürerler ve toksik besiyerinde yaşayabilirler. Hibride olmamış plazmasitoma hücreleri toksik besiyerinde ölürler. Hibrid hücreleri ayırt edildikten sonra birkaç kez üremeleri sağlanır. Bu metod, spesifik bir antijene karşı oluşturulan antikorları üreten hücre klonlarının izolasyonunu ve çoğaltılmasını sağlar.

**“Insertional” mutageniz:** Normal organizmanın genomuna sokularak, bir hücrenin viral veya hücresel DNA dizesi tarafından transformasyona uğratılmasıdır. Bu sokulan ve transforme edici etkisi olan dizeler normal genlerin regülasyonunu bozabilen promotorlar, veya büyüme kontrolünü düzenleyen maddeleri üreten viral protoonkogenler ya da hücresel protoonkogenler olabilirler. Sokulan DNA ayrıca normal gen dizelerine zarar verebilir ya da onlarla birleşebilir. Böylece, anormal polipeptidler oluşabilir. “Long-term repeats (LTRs)” güçlü promotorlardır ve yakınlarındaki normal büyüme kontrol eden genlerin aktivasyonlarına neden olabilirler.

**İntronlar:** Kodlama yapmayan gen dizeleridir. Bir gen RNA'ya transkrip edildikten sonra, geri kalan RNA intronları ilmikler (loops) oluşturmak üzere kıvrılarak ortamdan uzaklaştırılırlar. Bu ilmikler mRNA'nın proteine translasyonunda kullanılmazlar. İntronların transkripsiyonu düzenledikleri, ayrıca yeni proteinler ve genetik farklılıklar oluşturmak üzere nükleotid dizelerinin karılmasında rol aldıkları görülmektedir. İntronlar normal hücrelerde mevcuttur ama onkogenik retrovirüslerde bulunmazlar.

**Kinazlar:** Fosforilasyon yoluyla çeşitli nükleotidleri ve proteinleri düzenleyen enzimlerdir.

**Haberci RNA (mRNA):** Bütün intronları uzaklaştırılmış ve protein translasyonu için hazır olan RNA.

**“Missense” dizeler:** Anormal kodonlu DNA dizeleri. Bu dizelerden oluşan protein işlevsel olarak ya anormaldir ya da hiç işlevi yoktur.

**Monoklonal antikor:** Spesifik bir hücre yüzey antijenine karşı oldukça özgün olan hibridoma hücre kültürleri tarafından yapılan antikor.

**Nükleozidler:** Bir şeker (örn. RNA için riboz, DNA için deoksiriboz) ile birleşmiş pürin ya da pirimidin bazıdır.

**Nükleotidler:** Bir fosfat grubu bağlanmış nükleozid.

**Onkogen:** Bir hücreye malign fenotipik özellik kazandıran gen.

**Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR):** Çok küçük dizeli DNA miktarlarını arttırmak için kullanılan bir teknik.

**Promotor:** Belli bir genin yakınında bulunan ve o genin transkripsiyonunu başlatan bir DNA dizesidir.

**Proto-onkogen:** Viral onkogenlere (*v-onc*) veya hücrel onkogenlere (*c-onc*) homolog olan ve tipik olarak diferansiyasyon ve proliferasyonun kontrolü için esas olan proteinleri kodlayan normal hücre genleridir. İsimleri italik olarak yazılır. İsimlendirilmeleri “*c-*” ile başlar ve belli bir gen için spesifik olan üç harflik bir sembolden oluşan bir kısaltma ile devam eder (örn. *c-mos*).

**RNA:** Ribonükleik asit.

**Sinyal iletimi:** Ekstrasellüler moleküllerin intrasellüler kimyasal ve biyolojik süreçleri etkilediği mekanizmadır. Sinyal iletimi çok hücreli organizmalarda büyüme ve diferansiyasyon için esastır.

**Transkripsiyon:** Bir DNA şablonundan kendisine komplementer (ayna görüntüsü) olan RNA dizesinin oluşumudur.

**Transkripsiyon faktörleri:** Genlerin kontrol elemanlarına bağlanan spesifik proteinlerdir. Transkripsiyon faktörleri ailesi “helix-loop-helix” proteinleri, “helix-turn-helix” proteinleri, ve lösin çinko proteinlerini kapsar.

**Transfeksiyon:** Bir hücrenin DNA dizesinin bir başka hücrenin genomuna sokulmasıdır. Bazı hücrel onkogenler (*c-onc*) normal hücrelerin kanser hücrelerinden alınan DNA ile transfekte edilmesiyle keşfedilmiştir. Transforme edilen hücrelerin birkaç jenerasyondan sonra, *c-onc* hariç, transfekte edilen tüm DNA’sı kaybolur.

**Translasyon:** Hücre sitoplazmasındaki ribozomlar tarafından mRNA’dan proteinlerin üretilmesidir.