

TELOMERLERİN YAŞLANMA VE KANSER İLİŞKİSİNDEKİ ROLÜ

The Role of Telomeres in Aging and Cancer Relationships

Merve GÜNERİ YILDIZ¹, Sümer ARAS¹, Demet CANSARAN DUMAN²

¹Ankara Üniversitesi,
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
ANKARA
²Refik Saydam Hıfzısıhha
Merkezi Başkanlığı,
İlaç ve Kozmetik Araştırma
Müdürlüğü, ANKARA

Geliş Tarihi: 05.11.2009
Kabul Tarihi: 24.02.2010

İletişim:
Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi,
Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,
ANKARA
Tel : 0312 212 67 20
E-posta : aras@science.ankara.edu.tr

ÖZET

Telomerlerin yaşlanma ve kanser ilişkisindeki rolü oldukça önemlidir. Kansere tedavisinde ve teşhisinde geleneksel yöntemlerin yanı sıra telomerase aktivitesinin ölçümü özgün bir belirteç olarak kullanılabilir. Telomerase enzimleri ile ilgili yapılmış olan çalışmalar kansere tedavisinde etkili bir şekilde kullanılacaklarını göstermektedir. Ayrıca telomerlerin yaşlanma üzerindeki rolleri de birçok araştırmacının odak noktası olmuştur. Telomer kısalmasının insan hücresinin ömür uzunluğunun kısalmasında evrensel bir rol oynadığı yapılan çalışmalarla doğrulanmıştır. Telomerlerin, kansere tedavisinde ve yaşlanmayı geciktirici olarak kullanıma geçmiş olması umut verici bir gelişme olmuştur.

Anahtar Sözcükler: Telomer, yaşlanma, kanser

ABSTRACT

Telomeres have a major role in aging and cancer relationships. In cancer treatment and diagnosis, in addition to the traditional methods, the measurement of telomerase activity would be used as specific markers. The studies conducted on telomerase enzymes showed that they would be used effectively in the treatment of cancer. The role of telomeres in aging has also been the focus of many researches. It has been confirmed that telomere shortening plays universal role in shortening of the life of the human cells. Recent applications in the usage of telomeres as a retardant in aging and also in cancer treatment are happened to be a promising development in this area.

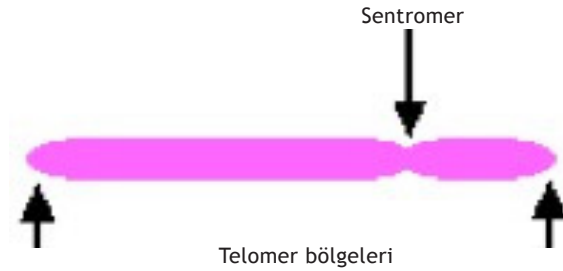
Key Words: Telomere, aging, cancer

GİRİŞ

1. KROMOZOMLARDA TELOMER BÖLGELERİ

1.1. Telomer Nedir?

Telomerler, kromozomların DNA ve protein içeren terminal (uç) bölgeleridir. Diğer kromozomal DNA dizilerinden hem yapısal hem de fonksiyonel olarak farklıdır. Telomer sentezinden telomeraz (telomer terminal transferaz veya revers transkriptaz) enzimi sorumludur (1).



Şekil 1: Telomerlerin kromozomlardaki yeri (1)

Telomer kavramı, 1930'lu yıllardan bu yana bilinmektedir. Bu yıllarda Hermann J. Müler *Drosophila melanogaster* ve Barbara Mc Clintock Zea mays kromozomları üzerinde çalışmışlardır. Müler, X radyasyonundan sonraki yapı değişiklikleri ve bu değişikliklerin görülme sıklığını incelemiştir. Çalışmalarının sonucunda, terminal bölgelerdeki delesyonların ve inversiyonların çok az görüldüğünü bildirmiştir. Araştırmalar ilerledikçe kırık uçlu kromozomların daha kolay birleştiği ve normal kromozomların telomer yapılarının kararlı olduğu, ne kırık uçlu kromozomların uçları ile ne de diğer telomerlerle birleşmediği görülmüştür. Bu bilgilerden sonra kromozomların bütünlüğünü sağlayan özel terminal (uç) yapıların varlığı kabul edilmiştir (1-4).

Telomerler iki problemi çözmek için bulunmaktadır. Birincisi; kromozom uçlarının replikasyonlarının tamamlanmasına olanak vermek; ikincisi ise bu uçların birbirleri ile karışmasını ya da kromozomların iç kısımları ile reaksiyon vermelerini önlemektir (1, 2).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda telomerlerde bulunan G4-DNA yapıları keşfedilmiştir. G4-DNA guanin bakımından zengin nükleik asit dizileri olup G- kuadrupleks (G-tetrad veya G4- DNA) adı verilen guaninlerin oluşturduğu dört zincirli bir yapıyı ifade etmektedir. G-4 DNA'yı stabilize eden ve telomeraz aktivitesini durdurabilen bileşikler kanser terapisinde ilgi çekmeye başlamıştır. Bu bileşikler G-4 kuadrupleks yapıyı stabilize etmek suretiyle telomeraz enziminin telomere ulaşmasını engellemektedir (5).

1.2. Telomerlerin Fonksiyonları

Telomeraz enzimi ile gerçekleştirilen telomer sentezi kromozomların uç bölgesinin bütünlüğünün korunması için gereklidir. Telomer içermeyen kırık uçlar disentrik, halkalı veya diğer kararsız kromozom yapıları oluşturacak şekilde uç uca eklenebilirler. Bu kararlı ve kararsız yapılar arasındaki farklılıklar, telomerlerin normal kromozom uçlarında bulunan özel yapılar olduğunu ve bu yapılar olmadığı zamanlarda kromozomların dayanıksız olduğunu göstermiştir. Telomerler DNA replikasyonunun düzensizliği konusunda sentromer bölgeleri ile aynı derecede önemlidir. Ayrıca interfaz çekirdeğinin üç boyutlu yapısının kurulmasında da etkili olduğu düşünülmektedir (1, 2, 4).

Hücre içinde telomer çekirdekleri zara yakın konumda olup sentromerlerle 180° açı oluştururlar. Telomerler homolog kromozomlarla homolog olmayan kromozomlar arasında geçiş sağlarlar (4).

Telomerlerin organizmalarda az miktarda bulunması nedeni ile -total DNA'nın yaklaşık %0.003'ü telomerik DNA'dır- bunların fonksiyonlarının ve sentezlenmelerinin anlaşılması ancak yakın zamanlarda başarılabilmektedir. Bu alandaki çalışmalar daha sonraları kısa ve doğrusal DNA'ları olan silli protozoalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Günümüzde telomerlerin yapı, fonksiyon ve sentez mekanizmaları; protozoalarda, küf mantarlarında, bitki ve hayvan

hücrelerinde incelenmeye devam etmektedir (1, 2).

Bugüne kadar çalışılan tüm organizmalarda kromozom uçlarının G ve T'den oluşan kısa, basit ve tekrar eden zincirler olduğu bilinmektedir. Tekrar edilen bu zincirlerin sayısı kazanılan ve kaybedilen zincirlerle belirlenir (2, 4).

1.3. Telomerik Proteinler

Kromozomal DNA'nın ucunda bulunan yapıları ile etkileşen kısımlar, telomeraz enzimi ve telomer yapısal proteinleridir. Telomerik DNA tekrarlarına tutunan özel amino asit dizisine sahip olan proteinler, telomerik kararlılığın sağlanmasına ve telomer uzunluklarının düzenlenmesine yardım ederler. Telomerlerin, TTAGGG dizi tekrarları ve telomer bağlayıcı proteinlerden oluşan kısmına "telesom" denilmektedir (4).

2. TELOMERİK DİZİLERİN DÜZENLENMESİ

2.1. Telomerik Diziler

Aralarında önemli evrimsel farklılıklar bulunan ökaryotik organizmaların telomer bölgelerindeki DNA dizileri ve yapıları benzerdir. Bu telomer bölgeleri, oldukça basit olan ve arka arkaya tekrar eden özel diziler içerir. DNA ipliklerinden bir tanesi guanin yönünden zengindir; 5' yönüne doğru uzar ve sitozin yönünden zengin olan iplikten daha uzundur. Dışarıya doğru uzantı yapan bu tek iplik kendi üzerinde kıvrılıp, Watson-Crick eşleşmesi göstermeyen, saç tokası şeklinde ve guanozin-guanozin eşleşmesi yapan bir yapı oluşturur (1, 2, 4).

Telomer bölgelerinde, bir anlamda düzenli bir düzensizlik olduğu söylenebilir. Bu farklı yapılar, tek iplikli kırılmalara neden olabilir. Sonuçta, DNA'daki açık noktalarda çalışabilen ligaz enzimi bağlanamaz ve bu bölgelerin nükleazlar tarafından tanınması önlenir. Saç tokası yapısı ve telomerik dizisi olmayan kırık uçlu kromozomlar, serbest DNA uçları ile birleşebilirler. Bu yapılar, aynı zamanda ekzonükleotik

yıkıma karşı da duyarlıdırlar. Telomerlerin telomerik proteinleri sayesinde yıkımdan kurtuldukları bilinmektedir. Telomerlerin kendilerine özgü yapıları sayesinde; disentrik kromozomların oluşması, kromozom birleşmeleri ve kromozomun alt telomerik bölgelerinden genetik bilgi kaybı önlenmiş olur (4-6).

Telomerik diziler tanımlanırken, iki nokta üzerinde önemle durmakta fayda vardır: Bu diziler kromozomların uç noktalarında bulunmalıdır ve doğrusal DNA molekülüne dayanıklılık sağlamalıdır (6).

Telomer bölgesinin kararlılığının sağlanabilmesi için, bu tekrarlayan dizilerden, maya ve diğer bazı tek hücreli canlılarda bir kaç yüz ve omurgalılarda bir kaç bin baz çifti kadar bulunması gereklidir (2, 4, 6).

2.2. Telomer Uzunluğu ve Telomer Kaybı

Telomer uzunluğunu etkileyen değişik bir çok genetik ve fizyolojik faktör vardır. Dengeleyici bir mekanizma olmasaydı yarı korumalı (semi konservatif) DNA replikasyonu sonucunda kromozomlar giderek uç kısımlarından kılacaklardı. Hücre kültüründeki ölü hücrelere ait telomerlerin birinci jenerasyon başına 65 baz çifti (bp) kadar kısaldığı bildirilmektedir. İnsana ait üreme dizisi hücrelerinin kromozomal uçlarında 10 kb'lık telomerik AGGGTT tekrarları vardır. Telomer uzunluğu ile yaş arasındaki ilişkiyi aydınlatmak amacı ile farklı yaşlardaki insanlara ait hücrelerde, insan fibroblastlarının ön kültürlerinde ve bazı kanser hücrelerinde çalışmalar yapılmış; telomer uzunluğunun artan hücre bölünme hızı veya yaşı ile azaldığı anlaşılmıştır. Ölümsüz HeLa doku kültürü hücrelerinde telomeraz aktivitesi saptanmaktadır. Aynı bulgular maya, Tetrahymena hücreleri ve insan üreme hücreleri için de geçerlidir. İnsan somatik hücrelerinde ise, telomeraz enzim aktivitesi tespit edilememiş ve bu hücrelerin telomerlerinin daha kısa olduğu görülmüştür. Tek istisna fare telomerleri için bilinmektedir: fare telomerleri insan telomerlerinin 5-10 katıdır ve yaşlı ile genç farelerin telomerleri

arasında dikkate değer bir farklılık yoktur. İlk defa 1973 yılında Olovnikov adlı bir araştırmacı, telomer kısalmasının ileride ölüme yol açabileceğini, somatik hücrelerde çoğalmayı sınırlayıp hücre yaşlanmasına neden olabileceğini bildirmiştir (7). Daha sonra yapılan araştırmalar Olovnikov'un bulgularını destekler niteliktedir.

Telomerik tekrarlar her hücre döngüsünde kaybedilir; ancak bu tekrarlar telomeraz enziminin etkisiyle kazanılır. Telomeraz, telomerik tekrarları 3' ucundan ekleyerek işlev görür. Bazı durumlarda ise rekombinasyonel replikasyon mekanizması ile tekrarları bir kromozom telomerinden diğer kromozoma kopyalayabilir. Telomeraz yokluğunda telomerlerde meydana gelen kayıpları azaltmak için kromozomların 3' ucundaki TnGn zincirlerinin DNA polimeraz enzimleri için iyi kalıp olmaları gereklidir. Bu husus tekrar eden telomerik dizilerin DNA polimeraz tarafından öncelikle belirlendiği olasılığını güçlendirmektedir (6).

DNA replikasyonu sonucu telomer dizilerinde kayıp olduğu takdirde telomeraz enzimi bu bozuklukları düzeltebilir. Düzeltilmediğinde telomer bölgelerinin koruyuculuğu kaybolur. Son yıllarda telomer bölgelerinin yapılarının ve telomeraz aktivitesinin hücre yaşlanması ve kanser oluşumu üzerinde etkili olduğu görülmüştür (4, 6).

Telomerlerin keşfi ile kromozom uçlarının kararlı yapıda olmadığı kesinleşmiştir. Kıvrılan uçlar uç uca kaynaşabilirler ya da diğer kararlı olmayan kromozom formlarını meydana getirebilirler. Moleküler analizler telomerlerin her bir DNA zincirinin 5' ucunda terminal noktasında kayıp olmadan lineer kromozomal DNA ucunun replikasyonuna izin verdiğini göstermiştir. Böyle bir kaybın, geleneksel yarı korunumlu replikasyon mekanizmasının bir özelliği olduğu tahmin edilmektedir (4).

Hücre bölünmesi sırasında meydana gelen telomerik zincirlerin kaybı kromozomal anomalilere

sebeplendir. Örneğin mayadaki "est1" mutasyonu ile meydana gelen telomer uzunluğunun kısalması, kromozom kaybına ve ölüme sebep olmaktadır (2, 6).

Eşey hücreleri yavru hücrelere uzunluğu tam olan kromozomları transfer etmek zorundadırlar. Fakat telomer hipotezi somatik dokularda yaşlanmayla telomer uzunluğunun azaldığını ileri sürmektedir. Sperm hücreleri uzun telomer dizilerine sahiptir ve telomer uzunluğu istikrarlı bir biçimde korunmaktadır. Buna karşın kan hücrelerinde telomer uzunluğunun yaşlanma ile azaldığı anlaşılmıştır. Bu sonuçlar, eşey hücrelerinin telomer bütünlüğünü sağladığını fakat somatik dokuların bunu yapamadıklarını göstermektedir (8).

2.3 Telomeraz ve Yapısı

Telomeraz, kromozomal uçlardaki TTAGGG tekrarlarının sentezinden sorumlu olan ribonükleoprotein yapıda özel bir DNA polimerazdır. İlk defa Tetrahymena'da tanımlanan telomeraz enzimi, daha sonraları insanlarda HeLa hücrelerinde gösterilmiştir. Embriyonik hücreler ve erişkin kök hücrelerinde aktif olan bu enzim, normal somatik hücrelerde saptanmamakta, kanser hücrelerinde yeniden aktive olmaktadır (8).

2.3.1. Telomerazın Fonksiyonu

Ökoryotik hücrelerdeki DNA replikasyonunda lider zincirdeki sentez tek RNA primeri kullanılarak 5' yönünde kesintisiz olarak tamamlanırken, kesikli zincirdeki sentez 8-12 bp'lik RNA primerleri kullanılarak 'Okazaki fragmanları' şeklinde gerçekleşmektedir. Terminal RNA primerlerinin uzaklaşmasına bağlı olarak yeni sentezlenen yavru zincirin 5' ucunda, -12 bp'lik bir boşluk oluşmaktadır. Kalıp DNA'nın 3' ucunun normal replikasyon mekanizmasıyla kopyalanamamasına "replikasyon sonu problemi" denmektedir. Bunu telafi edecek moleküler mekanizmaların yokluğunda, her hücre bölünmesinde kromozomal DNA'nın 3' ucunda, yaklaşık 50-200 nükleotidlik kayıp olmakta ve

hücrel yaşlanma gelişmektedir. Telomerlerin 3' ucunda bulunan guanin ve timin yönünden zengin 12-16 nükleotidlik uzantının, uzama evresinde kalıp görevi gördüğü düşünülmektedir. İnsan telomeraz enzimi (hTR), telomerik DNA dizisine komplementer olan 8-30 bazlık kısa bir segmentini, zincirin 3' ucunun uzatılmasında kalıp olarak kullanmaktadır. Telomerazın katalitik alt birimi olan insan telomeraz katalitik alt ünitesi (hTERT), bu diziyeye komplementer GGTTAG dizi tekrarlarını sentezleyerek guanin yönünden zengin olan 3' ucuna ekler. RNA kalıbı, yeni sentezlenen telomerik dizinin 3' ucuna doğru kayar ve DNA polimeraz, telomeraz enziminin sentezlediği bu diziyi kalıp olarak kullanarak, karşı tamamlayan zincirin sentezini gerçekleştirir (2, 9).

3. TELOMERLER ve YAŞLANMA

Normal dokulardaki telomerin uzatılmasından sorumlu sistemler bölünme sırasında etkinliklerini sürdürmezler. Bu nedenle telomerler hücre bölünmesi sırasında kısalırlar. Telomer uzunluğu hücrelerin replikatif yaşama süresini belirler. Telomerler kritik uzunluğa kadar kısalırlarında yaşlanma programı aktive olur. Bundan sonra hücre bölünmesi durur. Fakat yaşamaya ve fonksiyon görmeye devam ederler. Eşey hücrelerinde telomerlerin bakımı aktif olarak yapılmaktadır. Bunun sebebi, bir sonraki nesle kromozom transferi yapılma zorunluluğudur. Bu durum telomer replikasyonunda görevli olan telomeraz enzimi aktivitesi ile gerçekleşmektedir (1).

3.1. Hücre Yaşlanmasında Telomer Hipotezi

Telomer kısalmasının replikatif yaşam uzunluğunu kontrol edebileceği ve zamanı ayarlayabileceği ilk kez Olovkinov 1973'de tespit edilmiştir (7). Fakat telomer yapısı ve fonksiyonu ile ilgili halen günümüzde geçerli olan bilgiler 1990 yılında Harley tarafından açıklanmıştır (10).

Genel olarak incelendiğinde, insan hücrelerinde yaşlanma ve ölüm iki evrede gerçekleşir: M1 evresi; "Mortalite 1 Evresi" olarak adlandırılır. Bu evrede telomerlerin kısalması ile kromozomlar kritik boya ulaşırlar. Kritik nokta Hayflick and Moorhead tarafından "Hayflick Limiti (Proliferasyon Limiti)" olarak adlandırılmıştır. Bu olay hücre döngüsünü durdurur ve yaşlılık programını başlatır. M1 noktası replikatif hayat uzunluğunu temsil eder. Eğer bir hücre bu noktayı atlarsa, özellikle onkogenik transformasyonla telomerleri M2 noktasına kadar kısalırlar. M2 noktası da "kriz noktası" olarak adlandırılır. M2 noktasında büyük hücre ölümü meydana gelir. Bu, zayıflayan telomer fonksiyonuna bağlı olarak kromozom ölümünden dolayı olabilir. Bu krizi aşmak için telomeraz aktivitesine ihtiyaç vardır. Böylelikle telomer uzunluğu ve yapısı yeniden sağlanabilir ve devam ettirilebilir. M2 noktasında ortaya çıkan hücreler sınırsız şekilde bölünebilir. Normal somatik dokular ya da hücreler sadece senesens durumuna ulaşabilirler; yalnızca eşey hücreleri ya da dönüşüm yapabilen hücreler limitsiz hücre bölünme yeteneğine sahiptirler (11). Böylece telomerlerin telomerazın ve telomer proteinlerinin yaşlılık ve kanser mekanizmaları belirleyici ve geçerli modeller olarak kabul edilebilirler.

Simian virüs 40 (SV 40), insan papilomavirüs (HPV), adenovirüs gibi DNA tümör virüsleri ile transformasyon sonucu hücre yaşlanmasının üstesinden gelinebilir. Bir çok durumda, transforme olan hücre kültürleri uzamış bir yaşam döngüsüne sahip olurlar. Tümör virüsleri p53 ve p110RB hücrel tümör baskılayıcı proteinlere bağlanan ve onları inaktive eden proteinlere sahiptirler. Bu bulgu aynı zamanda viral transforme hücrelerin uzun hayat döngüsünün bu moleküllerin inaktivasyonu ile meydana geldiğini belirtmek için iyi bir kanıt oluşturmaktadır. Pek çok ölümsüz hücre, mutasyonlar ve gen delesyonları sonucu p53 ve p110RB bulundurmazlar (12).

4. TELOMERLER ve KANSER

Kanser vakalarında, hücrenin telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi incelendiğinde bazı önemli bulgular elde edilmiştir. Örnek olarak in vivo ortamda tümör oluşumu ve telomeraz aktivitesinin birbiri ile ilintili olduğuna dair ipuçları vardır. İyi huylu tümörlerde telomeraz aktivitesi yoktur ve telomerazları kısaltıkça erken evrelerine geri dönmektedirler. Daha saldırgan seyreden metastatik tümörlerde ise yüksek telomeraz aktivitesi gösterilmiştir. Telomeraz inhibitörü ilaçlar telomerlere karşı etkili ajanlar olarak önerilebilmektedir (1).

4.1. Kanser Tanısında Belirleyici Olarak Telomeraz

Kim ve arkadaşları (1994) hücre ve dokulardaki telomeraz aktivitesinin tayininde kullanılmak üzere TRAP (Telomeric Repeat Amplification Protocol-Telomerik Tekrarların Çoğaltılması) yöntemi geliştirmiş ve 24 farklı kanser türünde çalışarak, kanser ile telomeraz ekspresyonu arasında bir korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir. Bugüne kadar incelenen farklı tip tümörlerin % 85'inden fazlasında telomeraz aktivitesinin tespit edilmesi, ölümsüz hücrelerde telomerazın tekrar aktive olduğunu göstermektedir (13).

TRAP metodunun geliştirilmesi ile dokulardaki telomeraz aktivitesinin belirlenmesi, çok sayıda kanser türünde telomeraz ekspresyonunun araştırılmasını sağlamıştır. Günümüzde çok sayıda tümörde telomeraz ekspresyon çalışmaları yapılmaktadır. Bu sonuçlar telomerazın en yaygın olarak bilinen kanser belirleyicisi olduğunu göstermektedir. Shay ve Wright'in 1996 yılında yaptıkları bir çalışmaya göre habis tümörlerin % 85'inin telomeraz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur. Habis dokularda tespit edilen bu bulgu, telomerazın tanısız kanser için oldukça önemli bir gösterge olduğunu düşündürmektedir (14).

Tüm eşeyssel dokularda telomeraz aktivitesi bulunmaktadır. Bununla beraber periferik kan

lökositlerinde ve bazı vücut hücre popülasyonlarında zayıf telomeraz aktivitesi bulunmaktadır. Bazı normal dokularda da (% 6) tümörlerde olduğu gibi telomeraz pozitif olarak belirlenmiştir. TRAP metodunun telomeraz aktivitesini tespit etmek için yeterince hassas olması tümörlü olması muhtemel dokuları belirlemeyi de sağlamaktadır. Son dönemlerde gerçekleştirilen bir çalışmada 266 premalignant dokunun 38'inin (% 14) telomeraz aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (14).

Kanser teşhisi için standart histopatolojik tekniklerle biyopsi yapılarak tanı konmaktadır. Bu geleneksel yöntemlerin yanı sıra telomeraz aktivitesinin ölçümü oldukça özgün bir gösterge olarak kullanılabilir. Telomerazın en önemli klinik yararı idrar, kan, tükürük gibi vücut sıvılarından tespit edilebilmesidir. Örneğin; kan kanseri için yapılan çeşitli tanılar çok kesin sonuçlar verememektedir. Bu nedenle daha duyarlı belirteçler kan kanserini tespit etmek için önemli bulgular sunmaktadır. Kan kanseri olan bir hastanın idrarından ya da kan hücrelerinden telomeraz aktivitesi belirlenebilir (15).

Beyin tümörlerinin telomerazla ilişkisini araştıran Nakatani ve arkadaşları, normal beyin dokusunda telomeraz aktivitesi saptayamazken habis tümörlerde % 81, metastatik tümörlerde % 100 aktivite tespit etmişlerdir. Telomeraz (+) olan hastaların prognozunun, telomeraz (-) olanlara göre daha kötü, yaşam sürelerinin ise daha kısa olduğunu belirleyen araştırmacılar, telomeraz aktivitesinin beyin tümörlerinin teşhisinde ve prognoz tayininde kullanılabileceğini ileri sürmektedirler (16).

Bednarek ve arkadaşları meme kanserlerinin % 95 (99/104)'ünü, fibroadenomların ise % 20'sinde telomeraz aktivitesi bulmuşlardır. Enzim aktivitesi ile tümörün boyutu, evresi, lenf nodu metastazı, östrojen-progesteron reseptör miktarı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptayamadıklarından, prognoz tayininde güvenilir olmadığını düşünmektedirler (17).

Yoshida ve arkadaşları, mesane doku örneklerinin % 86'sında telomeraz aktivitesini (+) bulurken, tümör evresiyle telomeraz aktivitesi arasında korelasyon saptayamamıştır (18). Tümörlü ve komşu normal dokuları RT-PCR (ters transkriptaz-polimeraz zincir reaksiyonu) ile inceleyen Ito ve arkadaşları telomeraz aktivitesiyle hTERT mRNA ekspresyonu arasında belirgin bir ilinti bulunduğunu ve hTERT ekspresyonunun telomeraz aktivitesinin hız sınırlayıcısı olduğunu ileri sürmüşlerdir (19).

Endometrium kanseri, ABD'li kadınlarda sık görülen bir kanser tipi olup, özellikle menapoz sonrası dönemde zirveye çıkmaktadır. Kyo ve arkadaşları endometriumdaki telomeraz aktivitesi ile hücrelerin çoğalma kapasitesinin ilişkili olduğunu ve hTERT ekspresyonunun menstrüel döngü fazlarında karakteristik olarak değiştiğini saptamışlardır (20). Bu nedenle telomeraz aktivitesinin, post menopozal kadınlardaki endometrial kanserin erken dönemde teşhisinde belirleyici olması mümkündür. Ayrıca 2008 yılında Akbay ve arkadaşlarının gerçekleştirdikleri bir çalışmada da meme kanseri ve telomer kısalması arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (21).

Over kanserleri, kadın genital sistem tümörleri içerisinde en kötü prognoza sahip olan tümörlerdir. Epitelyal over tümörlerinin ayırıcı tanısının doğru yapılması, özellikle üreme çağındaki kadınların tedavilerinin planlanmasında çok önemlidir.

4.2. Kanser Tedavisinde Telomeraz

Telomeraz enzimleri kanserin tedavisinde iyileştirici etkiye sahiptirler. Kanser, vücutta belirli hücre popülasyonunun kontrolsüz çoğalması ile karakterize bir hastalıktır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar kanserin hücre büyümesinin kontrolü ve hücre çoğalma mekanizmalarını anlamaya yöneliktir. Bu çalışmalar çok sayıda onkogenlerin keşfini sağlamış ve hücre bölünmesi kontrolünün düzensiz mekanizmalar ile meydana geldiği belirlenmiştir. Kanser çalışmalarında sınırsız replikasyon kapasitesi

ya da malignant hücrelerin ölümsüz yapıları üzerine odaklanılmıştır (15).

Somatik hücrelerin sınırlı bölünme potansiyelleri telomerlere bağlıdır. Bu bir tümör baskılayıcı mekanizma olarak düşünülebilir. Ökaryotik canlılar hücre bölünmelerini sınırlandırarak kontrolsüz hücre çoğalmasını denetleyebilirler. Fakat kanser hücreleri bu engeli aşmış ve hücre ölümsüzlüğü başlatabilmek için büyük ve önemli bir yol bulmuşlardır: telomeraz enziminin aktivasyonu. Habis hücrelerin ölümsüz yapılarını hedefleyen tedavi ve tanıya yönelik ilerlemeler diğer uygulamalara nazaran kanser tanısı ve tedavisinde daha etkili bir yöntem olabilmektedir (14,15).

Mc Clintock'un 1941'de yapmış olduğu orijinal çalışmadan beri, telomer yapılarının kromozomal bütünlüğün sağlanması için önemli olduğu bilinmektedir (3). Omurgalılarda telomerazın telomer kaybını dengede tutan bir mekanizma olduğu hakkında bir çok çalışma mevcuttur. Telomerazlar bu nedenle kanser tedavisinde olağanüstü ilgi görmektedir. Telomerazların inhibisyonu kritik önemi olan telomerlerin kısalmasına yol açar; bu kısa kromozomlar kararsızlığa ve hücre ölümüne neden olur. Telomeraz ekspresyonu hücre ölümsüzlük ve hücre farklılaşmanın erken evreleri ile yakından alakalıdır fakat çoğalma oranı ile ilişkili değildir. Diğer bir deyişle, ölümsüz hücreler telomeraz ekspresyonunu düzenler. Bu olay hücre bölünmesinin telomeraz aktivasyonu için önemli olduğunu gösterir (2).

Hızlı bölünen iyi farklılaşmış hücreler genelde telomeraz aktivitesi göstermezler. Bu tip hücreler TRAP metodu ile de belirlenemezler. Yapılan çalışmalarda telomeraz inhibisyonunun habis hücreler için rastgele ve çoğalmış hücrelere etki yapan geleneksel kanser tedavilerine göre daha etkili bir uygulama olduğu gösterilmektedir (15).

Geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalarda telomerlerde G4-DNA (G-kuadrupleks veya G-tetrad)

adı verilen yapıların varlığı bulunmuştur. G4-DNA, guanince zengin diziler olup, guaninlerin oluşturduğu dört zincirli bir yapıyı ifade etmektedir. G-4 DNA'yı kararlı hale getirebilen, bunu yaparken telomeraz enziminin telomere ulaşmasını engelleyen ve telomeraz aktivitesini durdurabilen bileşikler de kanser terapisi için umut ışığı olmaktadır (5).

4.2.1. Telomeraz İnhibitörlerinin Kanser Tedavisindeki Yeri

Henüz spesifik inhibitörleri bulunmamış olmakla beraber, telomerazın DNA ile bağlantısını sağlayan kısmın bloke edilmesi kanser tedavisinde yeni bir umut kaynağı olarak düşünülmektedir. Telomeraz inhibitörleri, dirençli kanser hücrelerinin yeniden çoğalmasını önlemek için diğer tedavilerle bir arada veya onları takiben kullanılabilir. Tümöre özel olan ilk tedavi şekli olmakla birlikte, özellikle telomeraz aktivitesi gösteren hücrelerde (hematopoetik hücreler, üreme hücreleri, aktive T ve B lenfositler, proliferatif hücreler) yan etkileri görülebilir (14, 15).

5. SONUÇ

5.1. Yaşlanma ve Telomeraz

Telomer-yaşlanma ilişkisinin tam olarak açıklığa kavuşabilmesi için çok sayıda yeni araştırmaya ihtiyaç vardır. Hatırı sayılır bir ilerlemeye karşın alınacak yol epeyce uzundur. Cevaplanması gereken üç önemli soru bulunmaktadır:

1. Transplantasyon yapılmış dokularda, telomerazın dışarıdan ekspresyonu ile yaşlanma önenebilir mi?

2. Telomeraz ekspresyonu, transplantasyon yapılmış dokularda hassas onkogenik değişikliklerin oluşma olasılığını artırabilir mi?

3. Telomer artışı yapay olarak sağlanırsa ne olur?

Telomeraz aktivitesi, TTAGGG tekrarlarının normal insan kromozomlarının ucuna eklenmesi ile gerçekleşir. Hücrelere yapay olarak telomer eklenmesi

ile büyüme potansiyelinde çok büyük artışlar gözlenmiştir. İnsan primer hücrelerinin kullanıldığı deneylerde, belli sayıdaki hücre bölünmesinden sonra yaşlanmanın görüldüğü fakat telomeraz pozitif olan hücrelerde, yaşlanma özelliğinin ortadan kalktığı ve bölünmeye devam ettiği görülmüştür. Bazı hücre hatları, normal yaşlanma noktalarından sonra 20 popülasyon boyunca incelenmiş ve sadece büyümelerine devam etmekle kalmadıkları, aynı zamanda normal bir karyotip ve genç bir morfoloji gösterdikleri görülmüştür. Retinal epitelyal hücreler, fibroblastlar gibi farklı hücre tiplerinde yapılan deneyler de benzer sonuçlar vermiş ve telomer kısalmasının insan hücrelerinin ömür uzunluğunun kısalmasında evrensel bir rol oynadığı doğrulanmıştır. Telomeraz holoenziminin katalitik alt ünitesi olan hTERT'nin ekspresyonunun insan hücrelerinin sonsuz sayıda çoğalmasını sağlayabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, hTERT'nin ekspresyonuna izin veren retinal pigment epiteli hücreleri ve fibroblastlar üzerinde yapılan çalışmalarda yaşlanmanın, telomerlerin tükenme noktaları olan kriz aşamalarında atlatıldığı gözlenmiştir (2, 6, 14).

Telomer uzunluğu artırılarak sonsuz gençliğe ve canlılığa sahip olunabilir mi? Yapılan son çalışmalar, hücre içindeki telomeraz miktarının yapay olarak artırılması ile yaşlanmanın tersine çevrilebileceğini göstermiştir. Kültüre edilmiş insan hücrelerindeki telomeraz genlerini klonlayan araştırmacılar; 1000 baz çifti uzayan telomerlerle hücrenin, yaşlanma noktasından sonra bile bölünmeye devam ettiğini göstermişlerdir. Fakat böyle bir işlemin yüksek oranda kanser riski taşıdığını da belirtmek gerekir (1, 2).

5.2. Kanser ve Telomeraz

Farklı kanser tiplerinde yapılan çalışmalar, telomeraz aktivitesinin tanısal bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Küçük miktardaki örneklerin ve vücut sıvılarının (idrar örnekleri, plevra/bronko alveoler lavaj sıvıları, asit sıvısı, pelvik/periton yıkama sıvıları) bu yöntemle incelenebilmesi,

telomerazın belirteç olarak kullanım değerini arttırmaktadır.

Telomeraz inhibisyonu ile özellikle kısa telomerli tümör hücrelerinde yaşam süresinin kısalması, ölümsüzleşmede ve kanser gelişiminde telomeraz reaktivasyonunun rol aldığını desteklemektedir. Ancak bazı insan tümörleri ve ölümsüz hücre serilerinin, telomeraz aktivitesi göstermemelerine rağmen uzun telomere sahip olmaları, telomer uzamasını sağlayan alternatif mekanizmaların

bulunduğunu düşündürmektedir. İnsan telomerazının alt birimlerinin klonlanması, telomeraz aktivitesini düzenleyen genlerin keşfedilmesi ve telomerazın dışında ölümsüzleşmeye yol açan diğer mekanizmaların aydınlatılmasıyla, gerontolojide ve kanser tedavisinde sürpriz gelişmelerin olması beklenmektedir (1, 2, 9).

Tüm bu bilgiler ışığında, kromozomların 'mutlu sonlarını' oluşturan bu yapıların insanlık için de mutlu bir geleceğe imza atabilecek potansiyele sahip olduklarını söylemek yerinde olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Atlı K, Bozcuk AN. Telomerler ve Hücrel Yaşlanma. Geriatri 2002; 5: 111-4.
2. Blasco MA. Telomeres and Human Disease: Aging, Cancer and Beyond. Nature Reviews: Genetics 2005; 6: 611-22.
3. Mc Clintock B. The Stability of Broken Ends of Chromosomes in Zea mays. Genetics 1941; 41: 234-82.
4. Blackburn E. Structure and Function of Telomeres. Nature 1991; 350: 569-72.
5. Smith JS, Johnson FB. Isolation of G-Quadruplex DNA Using NMM-Sepharose Affinity Chromatography. In Baumann P. (eds), G-Quadruplex DNA: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 608 DOI 10.1007/978-1-59745-363-9_13, Humana Press; 2010.
6. Murray A. All's Well That Ends Well. Nature 1990; 797-8.
7. Olovnikov A. Theory of Marginotomy. J. Theor. Biol. 1973; 41:181-90.
8. Morin GB. Telomere Control of Replicative Lifespan. Exp Gerontol 1997; 32: 375-82.
9. Dikmen G, Doğan P. Telomeraz ve Kanser. Türkiye Klinikleri J. Med. Sci. 2003; 23: 334-41.
10. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres Shorten During Ageing of Human Fibroblasts. Nature 1990; 345: 458-60.
11. Hayflick L, Moorhead PS. The Serial Cultivation of Human Telomerase Activity Diploid Cell Strains. Exp Cell Res 1961; 25: 585-621.
12. Bryan TM, Reddel RR. Telomere Dynamics and Telomerase Activity in In vivo Immortalised Human Cells. Europ J Canc 1997; 33(5): 767-73.
13. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PL, Coviello GM, Wright WE, Weinrich SL, Shay JW. Specific Association of Human Telomerase Activity with Immortal Cells and Cancer. Science 1994; 266: 2011-5.
14. Shay JW, Wright WE. Telomerase Activity in Human Cancer. Curr Opin Oncol 1996; 8(1): 66-71.
15. Kim NW. Clinical Implications of Telomerase in Cancer. Europ J Canc 1997; 33(5): 781-6.
16. Nakatani K, Yoshimi N, Mori H, Yoshimura S, Sakai H, Shinoda J, Sakai N. The significant role of Telomerase Activity in Human Brain Tumors. Cancer 1997; 80(3): 471-6.
17. Bednarek AK, Sahin A, Brenner AJ, Johnston DA, Aldaz CM. Analysis of Telomerase activity levels in Breast Cancer. Clin Canc Resear 1997; 3(1): 11-6.
18. Yoshida K, Sugino T, Tahara H, Woodman A, Bolodeoku J, Nargund V. Telomerase activity in Bladder Carcinoma and its implication for noninvasive diagnosis by detection of exfoliated cancer cells in urine. Cancer 1997; 79: 362-9.
19. Ito H, Kyo S, Kanaya T, Takakura M, Koshida K, Namiki M, Inoue M. Cancer Research Detection of Human Telomerase Reverse Transcriptase Messenger RNA in Voided Urine Samples as A Useful Diagnostic Tool for Bladder Cancer. Clin Canc Resear 1998; 4(11): 2807-10.
20. Kyo S, Takakura M, Kohama T, Inoue M. Telomerase Activity in Human Endometrium. Canc Resear 1997; 57: 610-4.
21. Akbay, E., Contreras, C.M, Perera, S.A., Sullivan, J.P, Broaddus, R.R., Schorge, J.O., Raheela A., Saboorian, H., Wong, K.K, Castrillon, H.D. Differential Roles of Telomere Attrition in Type I and II Endometrial Carcinogenesis. Am J Pathol 2008;173: 536-44.