

# Cisplatin direncinde etkili moleküler mekanizmalar

Vildan Bozok Çetintaş, Zuhale Eroğlu.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tıbbi Biyoloji AD.

## Özet

Cisplatin birçok solid tümörün tedavisinde sıklıkla kullanılan platin bileşiği bir kemoterapotik ajandır. İlk defa 1970 yılında Escherichia coli' nin büyüme inhibitörü olarak keşfedilmiş, daha sonraki yıllarda anti kanser etkisi fark edilerek testis, over, serviks, baş ve boyun, küçük hücreli dışı akciğer ve lenfoma tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Testis kanserlerinde cisplatin genellekle iyi yanıt alınabilmesine karşılık diğer solid tümörlerde toksisite veya ilaç direnci nedeniyle terapötik etkinlik sınırlı kalmaktadır. Bu derlemede cisplatin yanıtının oluşmasını sağlayan biyokimyasal yollar, direnç gelişiminde etkili moleküler mekanizmalar ve yeni tedavi stratejileri değerlendirilmiştir. Cisplatin direnci gelişimindeki moleküler mekanizmaların anlaşılması daha efektif platin bazlı kemoterapotiklerin geliştirilmesi için önemli bilgiler sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Cisplatin direnci, DNA hasarı, DNA onarımı, translesyon sentezi, apoptoz

## Abstract

### Effective molecular mechanisms of resistance to cisplatin

Cisplatin is a platinating chemotherapeutic agent widely used in the treatment of many solid tumors. It was discovered for the first time as a growth inhibitor of Escherichia coli in 1970, later years its anticancer effects rediscovered and began to use in the treatment of testicular, ovarian, cervical, head and neck, non-small cell lung cancers and lymphoma. Although a good response to cisplatin can be achieved in the treatment of testicular cancer, therapeutic efficacy is limited due to toxicity or drug resistance in other solid tumors. In this review the molecular mechanisms through the development of cisplatin resistance and the new treatment strategies were evaluated. Understanding the molecular mechanisms of cisplatin resistance will provide important insights for designing more efficient platinum-based chemotherapeutics.

**Keywords:** Cisplatin resistance, DNA damage, DNA repair, translesion synthesis, apoptosis

## Giriş

Kemoterapotik bir ajan olan Cisplatin' e karşı tümör hücrelerinin geliştirdiği dirençte çok sayıda moleküler mekanizma rol almakta ve bu direnç farklı tümör tiplerinde farklı özellikler sergilemektedir. Kolon ve KHDAK (Küçük hücreli dışı akciğer kanseri) gibi tümörler cisplatin' e karşı kendilerine özgül veya yerleşik direnç gösterirlerken, baş ve boyun, testis, over ve KHAK' lerinin (Küçük hücreli akciğer kanseri) çoğunlukla cisplatin' e duyarlı olduğu bildirilmektedir. Ancak duyarlı tümörlerin çoğu tedavi başlangıcından sonra kazanılmış direnç geliştirebilmektedirler. Cisplatin direncinin gelişmesine neden olabilecek faktörler; hücrede ilaç birikiminin azalması, sülfür içeren bileşiklerin

inaktivasyonu, cisplatin-DNA adduct formlarının onarımlarının artması, apoptozda görevli proteinlerin ekspresyonlarında meydana gelen değişiklikler olarak sıralanabilmektedir.

### Biyokimyasal Etki Mekanizması

Cisplatin' in hücre içine alınması (influks) ve hücre dışına atılması (efluks) sırasında hangi mekanizmaların rol aldığı henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan ilk çalışmalarda, ilaç konsantrasyonunun hücre içine akışı sınırlandırılmasıyla birlikte saturasyon görülmemesi nedeniyle cisplatinin büyük oranda pasif difüzyon ile hücre içine alındığı bildirilmektedir (1). Ancak son çalışmalarda, bakır transportunda görevli membran proteinlerinin de hücre içindeki cisplatin konsantrasyonunu etkiledikleri gözlenmektedir (2). Hücreye giren bütün platinleyici ajanlar, klor ya da oksalat iyonlarını kaybederek iki

**Yazışma Adresi:** Dr. Vildan Bozok Çetintaş  
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi  
Tıbbi Biyoloji AD Bornova/İzmir  
Tel: 232 390 22 60  
E-mail: vildan.bozok.cetintas@ege.edu.tr

Müracaat tarihi: 24.06.2011  
Kabul tarihi: 01.05.2012

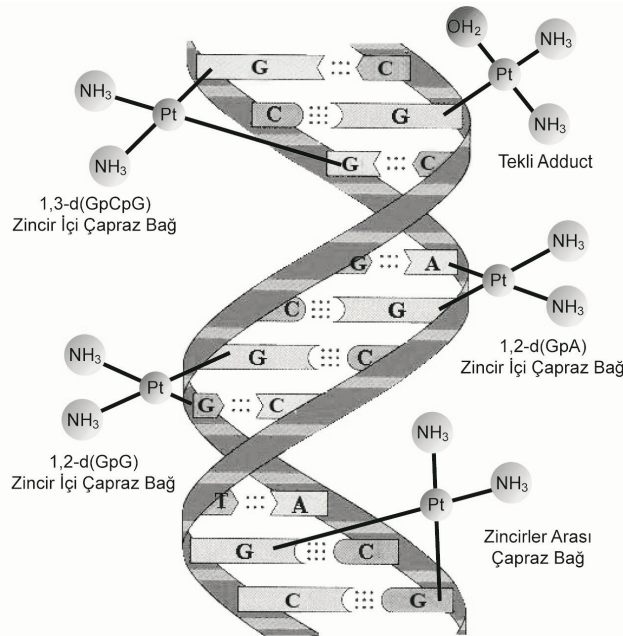
su molekülü kazanmakta ve bu şekilde hücre içindeki diğer nükleofilik moleküller (DNA, RNA, proteinler) ile etkileşebilir duruma gelmektedirler. DNA' nın büyük oluğunda yer alan adenin ve guanin bazlarının imidazol halkalarındaki N7 atomları, platinleyici ajanların DNA' ya bağlandıkları en ulaşılabilir ve reaktif nükleofilik bölgeyi oluşturmaktadır (3). Cisplatinin antitümör etkisi, bu bölgelerden genomik DNA' ya bağlanarak adduct formlarını oluşturmasıyla başlamaktadır. "Adduct" Türkçe' de tam karşılığı olmayan bir terim olup, cisplatin' in bağlanması ile normal yapısı bozularak bükülmüş DNA zinciri anlamını taşımaktadır. Cisplatin' in DNA' daki pürin bazlarına bağlanması ile tekli-adduct, zincir içi çapraz bağlar ve zincirler arası çapraz bağlar şeklinde 3 farklı yapı oluşabilmekte ve meydana gelen hasar normal transkripsiyonu ve/veya replikasyonu engelleyerek, kanser hücresinin ölümüne neden olan sitotoksik süreçleri tetiklemektedir (Şekil). Tekli-adduct formları platinleyici ajanların bir su molekülünü kaybetmesiyle meydana gelmekte ancak bunların % 90' ı çapraz bağlar oluşturmak üzere tekrar reaksiyona girmektedirler. Oluşan çapraz bağların büyük bir kısmı zincir içinde ve iki guanin molekülü arasında gerçekleşmekte, ileri düzeydeki formları ise zincirler arası çapraz bağlar şeklinde gözlenmekte ve DNA' da bükülmelere neden olmaktadır (4).

Zincir içi çapraz bağlar, DNA çift sarmalını büyük oluğa doğru bükerek çift heliks yapısını bozmakta ve küçük oluğu genişleterek HMG (High mobility group) proteinleri, DNA onarım proteinleri, transkripsiyon faktörleri ve histon-1 gibi proteinlerin bağlanmaları için yüzeysel bir alan oluşturmaktadır (5). HMG proteinlerinin cisplatin duyarlılığı için kritik önemi olduğu gösterilmekte ve özellikle cisplatin' e oldukça duyarlı bir doku olan testiste çok sayıda HMG proteini tanımlanmaktadır. HMG proteinlerinin kromatinin eğriliği ile yakından ilişkili olduğu ve HMGB ailesinin cisplatin ile oluşturulan çapraz bağlara bağlandıkları gösterilmektedir (6).

## Direnç Mekanizmaları

### 1. İnfluks/Efluks

Cisplatin' e duyarlı ve dirençli hücre serileri karşılaştırıldığında, direnç kazanmış birçok tümör tipinde ilaç birikiminin azaldığı gözlenmiş ve bu durumun ilacın hücre dışına atılmasından çok hücre içine alınımının azalmasına bağlı olabileceği düşünülmüştür (4,7). Plazma membranında bulunan ve hücre dışına bakır transportunda görevli olan membran proteinleri CTR1, ATP7A ve ATP7B' nin cisplatin direnci gelişiminde etkileri olduğu bildirilmektedir (2).



Şekil: Cisplatin ile oluşan DNA-adduct formları: Cisplatin intravenöz yolla verilerek kan dolaşımına geçmekte, ancak kanda klor konsantrasyonunun yüksek (~100mM) olması nedeniyle değişikliğe uğramamaktadır. Hücre içine girdiğinde, burada klor konsantrasyonu düştüğü için (~4mM), klor iyonlarını kaybederek 2 adet su molekülü almakta ve +2 yük kazanmaktadır. Bu şekilde hücre içi makromoleküller; protein, RNA ve DNA ile bağlanabilir duruma gelmektedir. Cisplatin' in bir su molekülünü kaybederek DNA' ya bağlanması ile tekli-adduct formları meydana gelmekte ancak bunların % 90' ı tekrar reaksiyona girerek çapraz bağları oluşturmaktadırlar.

Cisplatin dirençli akciğer kanseri hücre serilerinde CTR1 ekspresyonunun azaldığı gösterilmekte, ancak dirençli ve duyarlı oral skuamoz karsinoma hücrelerindeki ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir farklılık gözlenmemektedir (8). Over kanseri hücre serisinde artmış ATP7A ekspresyonunun bütün platinleyici ajanlara karşı ilaç direncini arttırdığı bildirilmektedir. Platinleyici ajanlarla tedavi edildikten sonra tümör dokularında ATP7A ekspresyonu pozitif olan over kanserli olgularda survi oranlarının daha düşük olduğu saptanmaktadır (9). Hücre serilerinde yapılan çalışmalarda ATP7B ekspresyonunun artmasıyla birlikte cisplatin direncinin de arttığı gözlenmektedir (10). Tümör dokusunda artmış oranda ATP7B ekspresyonu bulunan olguların daha kötü prognoz sergilediği belirtilmektedir (11).

## 2. Cisplatinin sülfür içeren moleküller ile inaktivasyonu

Sitoplazmada hidrolize edilerek iki su molekülü kazanan cisplatin, bu şekliyle sülfür (tiyol) içeren bileşiklerle de reaksiyona girebilmektedir. Glutasyon (GSH), cisplatin ile reaksiyona giren bir sülfür bileşimidir ve bazı çalışmalarda bu bileşiklerin artışı ile cisplatin direncinin de arttığı bildirilmektedir (7). Hücre içinde antioksidan olarak görev yapan GSH, sitoplazma ve nukleusta cisplatin ile bağlanarak GSH-cisplatin komplekslerini oluşturmaktadır. Bu şekilde tekli-adduct' ların çapraz bağlar oluşturmak üzere reaksiyona girmelerini engellemekte ve sitotoksik etkilerini azaltmaktadır. Plazma membranında bulunan GSH-X pompası, GSH-cisplatin komplekslerini ATP bağımlı bir mekanizma ile hücre dışına taşımaktadır (12). Cisplatin dirençli mesane kanseri hücre serilerine GSH inhibitörü uygulanarak hücre içi GSH düzeyi azaltılmakta ve cisplatin duyarlılığı artırılmaktadır (13). Ayrıca cisplatin duyarlılığı yüksek bir tümör olarak bilinen testis kanseri hücre serilerinde GSH düzeyleri düşük iken, cisplatin dirençli mesane kanseri hücre serilerinde yüksek bulunmaktadır (14). Over (15,16) ve baş-boyun (17) kanserlerinde klinik tümör örnekleri ile yapılan çalışmalarda ve kolon, akciğer adenokarsinoma ve glioblastoma (18) hücre serilerinde, GSH düzeyi ile cisplatin yanıtı arasında ilişki olduğu bildirilmesine karşılık, bu bulgular diğer bazı çalışmalarda doğrulanmamaktadır (19,20).

## 3. DNA Onarımının Artması

Genomik DNA' da çevresel etmenler nedeniyle veya kendiliğinden oluşan DNA hasarlarının onarılması için bazı mekanizmalar bulunmaktadır. Bu

mekanizmalar arasında en bilinenleri; kesip çıkarma onarımları, hata-okuma ve yanlış eşleşme onarımı, replikasyon sonrası onarım ve çift zincir kırık onarımıdır. Normal koşullarda bu mekanizmaların genom bütünlüğünü koruyucu ve hayatın devamlılığını sağlayıcı olarak çok önemli rolleri bulunmaktadır. Ancak, cisplatin tedavisi sırasında tümör hücrelerinde oluşturulan DNA hasarının onarımı istenmeyen bir durum olmaktadır. Çünkü tümör hücreleri DNA onarım mekanizmalarını arttırarak kemoterapiye dirençli duruma gelebilmektedirler. Cisplatin ile oluşturulan DNA hasarları daha çok nükleotid eksizyon onarımı (Nucleotide excision repair, NER) ile düzeltilmektedir.

**3.1. Nükleotid eksizyon onarımı:** Diğer onarım mekanizmalarına göre biraz daha karmaşık olan NER, özellikle DNA' daki büyük bölgelerin kesip çıkartılarak onarılmasında önemli bir mekanizma olmaktadır. NER mekanizmasında en önemli basamak olan hasarlı bölgenin tanınması ve her iki ucundan işaretlenmesi sırasında XPA (Xeroderma pigmentosum complementary group A), RPA (Replication protein A), XPC-HR23B, XPB ve XPF gibi bir dizi protein faktörü gerekmektedir. Cisplatin duyarlı testis ve cisplatin dirençli mesane kanseri hücre serileri karşılaştırıldığında, cisplatin duyarlı testis hücrelerinde NER kapasitesinin daha düşük olduğu bildirilmektedir (21). Cisplatin dirençli over kanseri hücre serisinde NER kapasitesinin 2-3 kat arttığı gösterilmekte (22), ancak bu modelde cisplatin direncinin DNA onarımı kapasitesine bağlanabilmesi için 50-200 kat gibi daha büyük farkların elde edilmesi gerektiği öngörülmektedir. NER'in cisplatin adduct' larının DNA' dan uzaklaştırılmasını sağlayan bir mekanizma olduğu ve zincir içi ya da zincirler arası çapraz bağlar nedeniyle oluşan yapısal değişikliğin DNA hasarının tanınmasını sağladığı düşünülmektedir. Bu mekanizma 3 tip zincir içi çapraz bağı (1,2-d(ApG), 1,2-d(GpG), 1,3-d(GpNpG) tanımlamakla birlikte 1,3 çapraz bağlarını daha etkin olarak tamir edebilmektedir. Bu bulguya dayanarak 1,2 zincir içi çapraz bağlarının en sitotoksik adduct formu olduğu hipotezi ileri sürülmektedir (23). NER yolağında rolü olan çok sayıda genin cisplatin direnci ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Örneğin, over tümörlerinde XPA ve ERCC1 (Excision repair cross-complementing 1) – XPF (Xeroderma pigmentosum complementary group F) ekspresyonu yüksek olan olgularda cisplatin direncinin geliştiği gözlenmektedir (24). Cisplatin dirençli primer over tümörlerinde ise XPB (Xeroderma pigmentosum complementary group

B) ekspresyonunun belirgin olarak daha yüksek olduğu bildirilmektedir (25). Benzer şekilde mide kanserlerinde cisplatin direnci ve ERCC1-XPF mRNA düzeyleri arasında bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir (26). Genellikle cisplatine duyarlı olan testis kanserlerinde ise ERCC1-XPF ve XPA düzeylerinin düşük olduğu saptanmaktadır (27).

**3.2. Yanlış Eşleşme Eksizyon Tamiri:** Yanlış eşleşme eksizyon tamiri (Mismatch repair, MMR), DNA replikasyonu sırasında meydana gelen hatalı eşleşme ya da inversiyon / delesyon ara ilmeklerinin oluşması gibi hataların onarımında önemli bir mekanizma olmaktadır (28). İki önemli ana bileşeni MutS ve MutL proteinleri olan MMR yolağının basamakları; yanlış eşleşmenin tanınması, eksizyonla çıkarılması ve yeniden sentezlenerek ligasyonla yapıştırılması olarak sıralanabilmektedir (29). Replikasyon hatalarının düzeltilmesinin yanında MMR yolağının diğer bir görevi; cisplatin, karboplatin ve 5-fluorouracil gibi DNA hasarını indükleyen ajanlara karşı ilaç yanıtının oluşmasını sağlamaktır. MMR yolağının çalışmadığı hücrelerde ise bu ilaçlara karşı hücre döngüsünün kontrolü ve apoptoz yanıtı baskılanmakta ve kemoterapi direnci gelişmektedir.

MMR' nin kemoterapi duyarlılığı ve direnci ile ilişkisini açıklamak için bazı modeller öne sürülmektedir. Çıkmaz döngü modeli'ne (futile cycle) göre, MMR yolağının tek fonksiyonu DNA onarımı olmaktadır. MMR sırasında oluşan DNA kırıklarının onarılamaması sonucunda hücre döngüsünün durdurulması ya da programlı hücre ölümü ile kemoterapi yanıtı oluşmaktadır (30). Örneğin, alkilleyici bir ajan olan MNNG (1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidineI) ile O6-metilguanin (O6-meG) oluşmakta ve bu bileşik sitozin ve timin bazları ile bağlanabilmektedir. O6-metilguanin içeren DNA dizisinin replikasyonu sırasında O6-meG/sitozin ve O6-meG/timin formları meydana gelmektedir. Bu formlar MutS tarafından tanınmakta ve MMR yolağı aktive edilmektedir. Şablon DNA dizisinde O6-meG bulunduğundan, MMR ile onarılamamakta ve meydana gelen DNA kırıkları nedeniyle hücre döngüsü durdurulmaktadır. MMR yolağının çalışmadığı hücrelerde ise O6-meG/sitozin ve O6-meG/timin formları tolere edilerek bu hücreler yaşamaya devam etmekte ve dirençli fenotip oluşmaktadır. Direkt sinyal modeli' ne göre ise MMR bileşenlerinin iki farklı fonksiyonu; DNA onarımı ve DNA hasarı sinyallerinin iletilmesidir (31). MutS, cisplatin DNA-adduct' ları ya da O6-meG/sitozin ve O6-meG/timin formlarını tanıyarak DNA hasarı sinyal

yolaklarını aktive etmektedir.

Cisplatin' e maruz bırakıldıktan hemen sonra izole edilen dirençli hücrelerde MMR defektlerinin olduğu ve genellikle hMLH1 (MutL homolog 1) geninde mutasyona neden olduğu bildirilmektedir (32). MMR' nin yetersiz olduğu tümör hücrelerinde cisplatin tedavisine karşı 2-3 kat daha fazla direnç olduğu gösterilmektedir (33). hMLH1 ekspresyonu bulunmayan cisplatin dirençli A2780 over kanseri hücre serisinde, hMLH1 ekspresyonunun yeniden sağlanmasının hücrelere cisplatin duyarlılığı kazandırdığı saptanmaktadır (34). Ayrıca hMLH1 negatif kolon kanseri hücre serisi HCT116, hMSH6 (MutS homolog 6) negatif kolon kanseri hücre serisi DLD1 ve hMSH2 (MutS homolog 2) negatif endometriyum kanser hücre serilerinin cisplatine olan dirençlerinin alt hücre serilerine göre 4 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir (35). Klinik yanıtta MMR' nin öneminin değerlendirildiği bir çalışmada platinyum bazlı tedaviden önce ve sonra hMSH2 ve hMLH1 ekspresyonları ölçülmekte ve tedaviden sonra ekspresyon düzeylerinin belirgin derecede azaldığı belirlenmektedir (36). Ancak protein düzeyi, hayatta kalma süresi gibi faktörlerle hMSH2 ve hMLH1 düzeyleri arasında ilişki bulunmamaktadır.

**3.3. Translezyon sentezi:** Translezyon sentezi (TLS), DNA zincirinde onarım mekanizmaları ile düzeltilmemiş hasarlı bölgelerin DNA polimerazlar tarafından sentezlenerek baypas edilmesi olarak tanımlanmaktadır. Memelilerde tanımlanmış olan DNA polimerazlar; pol η (POLH), pol ι (POLI), pol κ (POLK), pol β, pol ζ (REV3) ve REV1 olarak sıralanmakta ve DNA hasarının tipine bağlı olarak farklı polimeraz kombinasyonları çalışabilmektedir (37). Örneğin, cisplatin-GG adduct' ları pol κ tarafından baypas edilememesine rağmen (38), pol η ve pol ζ ile düzeltilebilmektedir (37). Hücre serilerinde yapılan çalışmalar sonucunda translezyon sentezinin cisplatin direnci oluşmasında önemli bir yolak olduğu gösterilmektedir. Hücre serilerinde pol η aktivitesinin inhibe edilmesi hasarlı DNA yanıtını indüklemekte ve cisplatin duyarlılığını sağlamaktadır (39). Fibroblast hücrelerinde de benzer sonuçlar elde edilmesi pol η' nin cisplatin yanıtının artırılmasında yeni bir hedef protein olabileceğini göstermektedir (40).

Fare embriyo fibroblastlarında pol ζ eksikliği DNA' da çapraz bağlar oluşturan ajanlara karşı duyarlılığı arttırmakta (41), glioma hücrelerindeki fazla ekspresyonu ise cisplatin direncine neden olmaktadır (42). Benzer şekilde fibroblast ve kolon kanseri hücre

serilerinde pol  $\zeta$  ekspresyonunun baskılanması cisplatine duyarlılık sağlamaktadır (43,44). Over kanseri hücre serisi A2780' de pol  $\beta$  inhibitörü masticadiononic asit uygulanması cisplatin adduct' larının translezyon sentezini engellemekte ve cisplatin duyarlılığını arttırmaktadır (45).

Tümör dokusu örneklerinde DNA polimeraz ekspresyonlarının araştırıldığı çalışmalar da translezyon sentezinin cisplatin direnci oluşmasında önemli bir mekanizma olduğu gösterilmektedir. Platinyum bazlı kemoterapi ile tedavi edilen akciğer kanserli olgularda hayatta kalma oranının artışına karşı pol  $\eta$  ekspresyonunun azaldığı belirtilmektedir (46). Sağlıklı doku örnekleri ile karşılaştırıldığında DNA polimerazların ekspresyon düzeylerinin tümör dokularında arttığı (47), ancak farklı bir çalışmada pol  $\eta$ ,  $\iota$ ,  $\kappa$  ve  $\zeta$  ekspresyonlarının azaldığı bildirilmektedir (48).

#### 4. Apoptotik yollar ve cisplatin direnci

Programlı hücre ölümü olarak da adlandırılan apoptoz, organizmanın gelişmesi ve doku homeostazının sürdürülmesindeki en önemli olaylardan biridir. Ayrıca tümör hücrelerinin öldürülmesinin amaçlandığı tedavilerde apoptotik yolları aktive edebilecek proteinler hedef alınmaktadır. Cisplatin de diğer ilaçlara benzer şekilde apoptoz yoluyla hücre ölümünü sağlamakta ve bu yollardaki düzensizlikler cisplatin direncine neden olmaktadır. Küçük hücreli dışı akciğer kanser hücre serilerinde yaptığımız bir çalışmada azalmış apoptotik aktivitenin cisplatin direncine neden olduğu gösterilmiştir (49).

Tümör baskılayıcı protein p53' ün, kanser hücrelerinde apoptoz yoluyla kemoterapi yanıtının oluşturulmasında önemli rolleri bulunmaktadır. P53 mutant hücre serilerinin cisplatine daha dirençli olduğu (50), benzer şekilde glioma hücre serilerinde p53 inaktivasyonunun cisplatin direncine neden olduğu bildirilmektedir (51). Ancak in vivo çalışmalardan elde edilen bulgular platinyum bazlı kemoterapiye yanıtın önceden tahmin edilmesinde p53' ün kullanılabileceğini ve p53-mutant tümörlerde tam yanıtın daha düşük oranda olduğunu göstermektedir (52). Anti-apoptotik proteinlerin de cisplatin direnci ile ilişkili olduğunu bildiren, hem in vitro sistemler hem de in vivo örneklerde yapılmış çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Cisplatin dirençli over kanseri hücrelerinde apoptozu başlatan enzimlerden olan Bax' ın (BCL2-associated X protein) ekspresyonunda azalma gözlenmektedir (53). Ancak bu durumun aksine Bax eksprese eden baş ve boyun squamoz

kanser hücrelerinin cisplatin' e daha duyarlı olduğu belirtilmektedir (54). Apoptoz inhibitörlerinden Bcl-2 veya BclXL' in (Bcl2-like 1) hücrelere transfeksiyonu cisplatin direncine neden olurken, BclXL ekspresyonunun baskılanması cisplatin duyarlılığını sağlamaktadır (55). Testis kanseri hücre serilerinde Bax ekspresyonu yüksek iken, Bcl-2 ekspresyonunun düşük olduğu ve bu durumun testis kanser hücrelerinin cisplatin tedavisine oldukça duyarlı olmalarını sağladığı belirtilmektedir (56). Over kanseri ve lenfoma hücrelerinde cisplatin direnci apoptotik yanıtın azalması ile ilişkilendirilmekte ve dirençli over kanseri hücrelerinde apoptozun başlatılabilmesi için daha yüksek dozlarda cisplatin' e gerek duyulduğu belirtilmektedir (35).

#### Sonuç

Cisplatin direnci gelişimindeki mekanizmaların tam olarak anlaşılması, yeni ilaç hedeflerinin geliştirilmesi ve klinik yanıtın önceden belirlenebilmesi açısından özellikle önem kazanmaktadır. Moleküler biyolojideki gelişmeler ile cisplatinin, DNA hasarının tanınması ve hasar sinyallerinin iletimi, hücre döngüsünün durdurulması, DNA onarımı ve apoptozun indüklenmesi gibi hücre içinde izlediği yollar hakkında daha fazla bilgi birikimi sağlanmıştır. Bu birikim daha etkili kombine tedavi seçeneklerinin oluşturulmasını ve/ veya yeni platin bazlı kemoterapotik ilaçların geliştirilmesini kolaylaştıracaktır.

#### Kaynaklar

1. Wang D, Lippard SJ. Cellular processing of platinum anticancer drugs. *Nat Rev Drug Discov.* 2005;4(4):307-20.
2. Kuo MT, Chen HH, Song IS, Savaraj N, Ishikawa T. The roles of copper transporters in cisplatin resistance. *Cancer Metastasis Rev.* 2007;26(1):71-83. Epub 2007/02/24.
3. Zorbas H, Keppler BK. Cisplatin damage: are DNA repair proteins saviors or traitors to the cell? *Chembiochem.* 2005;6(7):1157-66.
4. Fuertes MA, Alonso C, Perez JM. Biochemical modulation of Cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance. *Chem Rev.* 2003;103(3):645-62.
5. Kartalou M, Essigmann JM. Recognition of cisplatin adducts by cellular proteins. *Mutat Res.* 2001;478(1-2):1-21.
6. Vaisman A, Lim SE, Patrick SM, Copeland WC, Hinkle DC, Turchi JJ, et al. Effect of DNA polymerases and high mobility group protein 1 on the carrier ligand specificity for translesion synthesis past platinum-DNA

- adducts. *Biochemistry*. 1999;38(34):11026-39.
7. Siddik ZH. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance. *Oncogene*. 2003;22(47):7265-79.
  8. Koberle B, Tomicic MT, Usanova S, Kaina B. Cisplatin resistance: preclinical findings and clinical implications. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1806(2):172-82. Epub 2010/07/22.
  9. Katano K, Kondo A, Safaei R, Holzer A, Samimi G, Mishima M, et al. Acquisition of resistance to cisplatin is accompanied by changes in the cellular pharmacology of copper. *Cancer Res*. 2002;62(22):6559-65.
  10. Komatsu M, Sumizawa T, Mutoh M, Chen ZS, Terada K, Furukawa T, et al. Copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) is associated with cisplatin resistance. *Cancer Res*. 2000;60(5):1312-6.
  11. Katoh R, Takebayashi Y, Takenoshita S. Expression of copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) as a chemoresistance marker in human solid carcinomas. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;11(3):143-5. Epub 2005/07/21.
  12. Ishikawa T, Ali-Osman F. Glutathione-associated cis-diamminedichloroplatinum(II) metabolism and ATP-dependent efflux from leukemia cells. Molecular characterization of glutathione-platinum complex and its biological significance. *J Biol Chem*. 1993;268(27):20116-25.
  13. Byun SS, Kim SW, Choi H, Lee C, Lee E. Augmentation of cisplatin sensitivity in cisplatin-resistant human bladder cancer cells by modulating glutathione concentrations and glutathione-related enzyme activities. *BJU Int*. 2005;95(7):1086-90. Epub 2005/04/21.
  14. Masters JR, Thomas R, Hall AG, Hogarth L, Matheson EC, Cattan AR, et al. Sensitivity of testis tumour cells to chemotherapeutic drugs: role of detoxifying pathways. *Eur J Cancer*. 1996;32A(7):1248-53. Epub 1996/06/01.
  15. Surowiak P, Materna V, Kaplenko I, Spaczynski M, Dietel M, Lage H, et al. Augmented expression of metallothionein and glutathione S-transferase pi as unfavourable prognostic factors in cisplatin-treated ovarian cancer patients. *Virchows Arch*. 2005;447(3):626-33. Epub 2005/06/22.
  16. Satoh T, Nishida M, Tsunoda H, Kubo T. Expression of glutathione S-transferase pi (GST-pi) in human malignant ovarian tumors. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2001;96(2):202-8. Epub 2001/06/01.
  17. Nishimura T, Newkirk K, Sessions RB, Andrews PA, Trock BJ, Rasmussen AA, et al. Immunohistochemical staining for glutathione S-transferase predicts response to platinum-based chemotherapy in head and neck cancer. *Clin Cancer Res*. 1996;2(11):1859-65. Epub 1996/11/01.
  18. Goto S, Kamada K, Soh Y, Ihara Y, Kondo T. Significance of nuclear glutathione S-transferase pi in resistance to anti-cancer drugs. *Jpn J Cancer Res*. 2002;93(9):1047-56. Epub 2002/10/03.
  19. Ikeda K, Sakai K, Yamamoto R, Hareyama H, Tsumura N, Watari H, et al. Multivariate analysis for prognostic significance of histologic subtype, GST-pi, MDR-1, and p53 in stages II-IV ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2003;13(6):776-84. Epub 2003/12/17.
  20. Miyatake K, Gemba K, Ueoka H, Nishii K, Kiura K, Tabata M, et al. Prognostic significance of mutant p53 protein, P-glycoprotein and glutathione S-transferase-pi in patients with unresectable non-small cell lung cancer. *Anticancer Res*. 2003;23(3C):2829-36. Epub 2003/08/21.
  21. Koberle B, Masters JR, Hartley JA, Wood RD. Defective repair of cisplatin-induced DNA damage caused by reduced XPA protein in testicular germ cell tumours. *Curr Biol*. 1999;9(5):273-6. Epub 1999/03/13.
  22. Ferry KV, Hamilton TC, Johnson SW. Increased nucleotide excision repair in cisplatin-resistant ovarian cancer cells: role of ERCC1-XPF. *Biochem Pharmacol*. 2000;60(9):1305-13. Epub 2000/09/29.
  23. Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev*. 2007;33(1):9-23.
  24. Li Q, Yu JJ, Mu C, Yunbham MK, Slavsky D, Cross CL, et al. Association between the level of ERCC-1 expression and the repair of cisplatin-induced DNA damage in human ovarian cancer cells. *Anticancer Res*. 2000;20(2A):645-52.
  25. Dabholkar M, Thornton K, Vionnet J, Bostick-Bruton F, Yu JJ, Reed E. Increased mRNA levels of xeroderma pigmentosum complementation group B (XPB) and Cockayne's syndrome complementation group B (CSB) without increased mRNA levels of multidrug-resistance gene (MDR1) or metallothionein-II (MT-II) in platinum-resistant human ovarian cancer tissues. *Biochem Pharmacol*. 2000;60(11):1611-9.
  26. Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, et al. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol*. 1998;16(1):309-16.
  27. Welsh C, Day R, McGurk C, Masters JR, Wood RD, Koberle B. Reduced levels of XPA, ERCC1 and XPF DNA repair proteins in testis tumor cell lines. *Int J Cancer*. 2004;110(3):352-61.
  28. Martin SA, Lord CJ, Ashworth A. Therapeutic targeting of the DNA mismatch repair pathway. *Clin Cancer Res*. 2010;16(21):5107-13. Epub 2010/09/09.
  29. Kunkel TA, Erie DA. DNA mismatch repair. *Annu Rev Biochem*. 2005;74:681-710. Epub 2005/06/15.
  30. Karran P. Mechanisms of tolerance to DNA damaging

- therapeutic drugs. *Carcinogenesis*. 2001;22(12):1931-7. Epub 2001/12/26.
31. Kat A, Thilly WG, Fang WH, Longley MJ, Li GM, Modrich P. An alkylation-tolerant, mutator human cell line is deficient in strand-specific mismatch repair. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(14):6424-8. Epub 1993/07/15.
32. Brown R, Hirst GL, Gallagher WM, McIlwrath AJ, Margison GP, van der Zee AG, et al. hMLH1 expression and cellular responses of ovarian tumour cells to treatment with cytotoxic anticancer agents. *Oncogene*. 1997;15(1):45-52.
33. Stojic L, Brun R, Jiricny J. Mismatch repair and DNA damage signalling. *DNA Repair (Amst)*. 2004;3(8-9):1091-101.
34. Durant ST, Morris MM, Illand M, McKay HJ, McCormick C, Hirst GL, et al. Dependence on RAD52 and RAD1 for anticancer drug resistance mediated by inactivation of mismatch repair genes. *Curr Biol*. 1999;9(1):51-4.
35. Kartalou M, Essigmann JM. Mechanisms of resistance to cisplatin. *Mutat Res*. 2001;478(1-2):23-43.
36. Samimi G, Fink D, Varki NM, Husain A, Hoskins WJ, Alberts DS, et al. Analysis of MLH1 and MSH2 expression in ovarian cancer before and after platinum drug-based chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2000;6(4):1415-21.
37. Shachar S, Ziv O, Avkin S, Adar S, Wittschieben J, Reissner T, et al. Two-polymerase mechanisms dictate error-free and error-prone translesion DNA synthesis in mammals. *EMBO J*. 2009;28(4):383-93. Epub 2009/01/21.
38. Ohashi E, Ogi T, Kusumoto R, Iwai S, Masutani C, Hanaoka F, et al. Error-prone bypass of certain DNA lesions by the human DNA polymerase kappa. *Genes Dev*. 2000;14(13):1589-94. Epub 2000/07/11.
39. Cruet-Hennequart S, Villalan S, Kaczmarczyk A, O'Meara E, Sokol AM, Carty MP. Characterization of the effects of cisplatin and carboplatin on cell cycle progression and DNA damage response activation in DNA polymerase eta-deficient human cells. *Cell Cycle*. 2009;8(18):3039-50. Epub 2009/08/29.
40. Albertella MR, Green CM, Lehmann AR, O'Connor MJ. A role for polymerase eta in the cellular tolerance to cisplatin-induced damage. *Cancer Res*. 2005;65(21):9799-806. Epub 2005/11/04.
41. Roos WP, Tsaalbi-Shtylik A, Tsaryk R, Guvercin F, de Wind N, Kaina B. The translesion polymerase Rev3L in the tolerance of alkylating anticancer drugs. *Mol Pharmacol*. 2009;76(4):927-34. Epub 2009/07/31.
42. Wang H, Zhang SY, Wang S, Lu J, Wu W, Weng L, et al. REV3L confers chemoresistance to cisplatin in human gliomas: the potential of its RNAi for synergistic therapy. *Neuro Oncol*. 2009;11(6):790-802. Epub 2009/03/18.
43. Wu F, Lin X, Okuda T, Howell SB. DNA polymerase zeta regulates cisplatin cytotoxicity, mutagenicity, and the rate of development of cisplatin resistance. *Cancer Res*. 2004;64(21):8029-35. Epub 2004/11/03.
44. Lin X, Trang J, Okuda T, Howell SB. DNA polymerase zeta accounts for the reduced cytotoxicity and enhanced mutagenicity of cisplatin in human colon carcinoma cells that have lost DNA mismatch repair. *Clin Cancer Res*. 2006;12(2):563-8. Epub 2006/01/24.
45. Boudsocq F, Benaim P, Canitrot Y, Knibiehler M, Ausseil F, Capp JP, et al. Modulation of cellular response to cisplatin by a novel inhibitor of DNA polymerase beta. *Mol Pharmacol*. 2005;67(5):1485-92. Epub 2005/02/11.
46. Ceppi P, Novello S, Cambieri A, Longo M, Monica V, Lo Iacono M, et al. Polymerase eta mRNA expression predicts survival of non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2009;15(3):1039-45. Epub 2009/02/04.
47. Albertella MR, Lau A, O'Connor MJ. The overexpression of specialized DNA polymerases in cancer. *DNA Repair (Amst)*. 2005;4(5):583-93. Epub 2005/04/07.
48. Pan Q, Fang Y, Xu Y, Zhang K, Hu X. Down-regulation of DNA polymerases kappa, eta, iota, and zeta in human lung, stomach, and colorectal cancers. *Cancer Lett*. 2005;217(2):139-47. Epub 2004/12/25.
49. Cetintas VB, Kucukaslan AS, Kosova B, Tetik A, Selvi N, Cok G, et al. Cisplatin resistance induced by decreased apoptotic activity in Non Small Cell Lung Cancer cell lines. *Cell Biol Int*. 2011. Epub 2011/10/11.
50. Branch P, Masson M, Aquilina G, Bignami M, Karran P. Spontaneous development of drug resistance: mismatch repair and p53 defects in resistance to cisplatin in human tumor cells. *Oncogene*. 2000;19(28):3138-45. Epub 2000/08/02.
51. Xu GW, Mymryk JS, Cairncross JG. Inactivation of p53 sensitizes astrocytic glioma cells to BCNU and temozolomide, but not cisplatin. *J Neurooncol*. 2005;74(2):141-9. Epub 2005/09/30.
52. Gadducci A, Cosio S, Muraca S, Genazzani AR. Molecular mechanisms of apoptosis and chemosensitivity to platinum and paclitaxel in ovarian cancer: biological data and clinical implications. *Eur J Gynaecol Oncol*. 2002;23(5):390-6. Epub 2002/11/21.
53. Sakakura C, Sweeney EA, Shirahama T, Igarashi Y, Hakomori S, Tsujimoto H, et al. Overexpression of bax sensitizes breast cancer MCF-7 cells to cisplatin and etoposide. *Surg Today*. 1997;27(7):676-9.
54. Sugimoto C, Fujieda S, Seki M, Sunaga H, Fan GK, Tsuzuki H, et al. Apoptosis-promoting gene (bax) transfer potentiates sensitivity of squamous cell carcinoma to cisplatin in vitro and in vivo. *Int J Cancer*. 1999;82(6):860-7.

55. Taylor JK, Zhang QQ, Monia BP, Marcusson EG, Dean NM. Inhibition of Bcl-xL expression sensitizes normal human keratinocytes and epithelial cells to apoptotic stimuli. *Oncogene*. 1999;18(31):4495-504.
56. Chresta CM, Masters JR, Hickman JA. Hypersensitivity of human testicular tumors to etoposide-induced apoptosis is associated with functional p53 and a high Bax:Bcl-2 ratio. *Cancer Res*. 1996;56(8):18