

## Kanser Yolakları

*Doç.Dr. Ayfer PAZARBAŞI\**  
*Prof.Dr. Mülkiye KASAP\**  
*Prof.Dr. Halil KASAP\**

### 1. GİRİŞ

Kansere neden olan 250'nin üzerinde gen tanımlandığı ve birçok gende işaret edildiği için, çeşitli mekanizmaların insan kanserlerine sebep olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmalar henüz tamamlanmadığı için son olarak bilinen onkoproteinlerin büyük çoğunluğu bu sınırlı sayıdaki yolaklara dahil edilebilir veya en azından bu yolaklarda aktivite gördüğü gösterilebilir. Bu yolaklar aynı zamanda normal hücrelerinde akıbetini, yaşamını, proliferasyonunu, farklılaşmasını ve fonksiyonunu düzenleyen sistemlerdir. Kanser hücrelerinde, kontrolsüz proliferasyon, farklılaşmanın bloke edilmesi, azalmış apoptoz, değişmiş doku yapısı gibi kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerine sebep olmak üzere bu yolakların aktivitesi artmış veya inaktive edilmişlerdir. Bazı "kansere yolakları" spesifik bir kanser türüne dahil olurken, diğerleri malignan tümörlerin geniş bir aralığında kritik rollere sahip olabilirler. Her hücrenel regülatör sistemi bir kanser yolağı olarak düşünmekten sakınmak için şöyle bir tanımlama formülü geliştirilebilir: Bir "kansere yolağı", en azından bir insan kanserinin gelişimi için bir genetik veya epigenetik mutasyonla aktivasyonu veya inaktivasyonu gerekli olan bir hücrenel regülatör sistemdir. Tipik olarak kansere yolakları bir kanser tipine veya farklı kanser tiplerine sahip bireylerde aynı regülatör sistemlerin farklı komponentlerindeki değişimlerle ortaya çıkabilirler<sup>1</sup>.

Bu son kriterlere göre çeşitli regülatör sistemler, prototipik kansere yolakları olarak değerlendirilebilirler (Tablo 1). Bunlar MAPK yolağı, TP53 regülatör sistemi ve RB1 etrafında yoğunlaşmış olan hücre döngüsü regülatör ağından

---

\*Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ADANA

oluşmaktadır. Bu yolların hepsi birbiri ile etkileşim halindedir. Bunlar aynı zamanda PI3K yolağı, PKC kinazlar, STAT yolağı, NFκB yolağı ve TGFβyanıt yolağı gibi diğer yollar ve proteinlerle de bağlantılıdır. Üçüncü bir kanser yolağı grubu da WNT ve Hedgehog yanıt yolağı ve NOTCH regülatör sisteminden oluşmaktadır. Fetal gelişim esnasında dokuların farklılaşması ve şekillenmesinin düzenlenmesinde gereklidirler ve yetişkin insanlarda doku homeostazının sağlanmasında, özellikle sık rejenerasyon olan dokularda önemlerini yitirmezler. Özellikle spesifik kanserlerde önemlidirler. Burada kanser yolları anlatılırken MAPK ve PI3K yollarının ardından sırasıyla P53 ağı ve ilişkili olduğu TGFβ faktörleri ile sinyalleşme, STAT faktörleri ile sinyalleşme, NFκB yolağı ve Kanser yolları olarak gelişimsel regülatör sistemlerden (WNT, Hedgehog/SHH ve NOTCH yolları) bahsedilecektir.

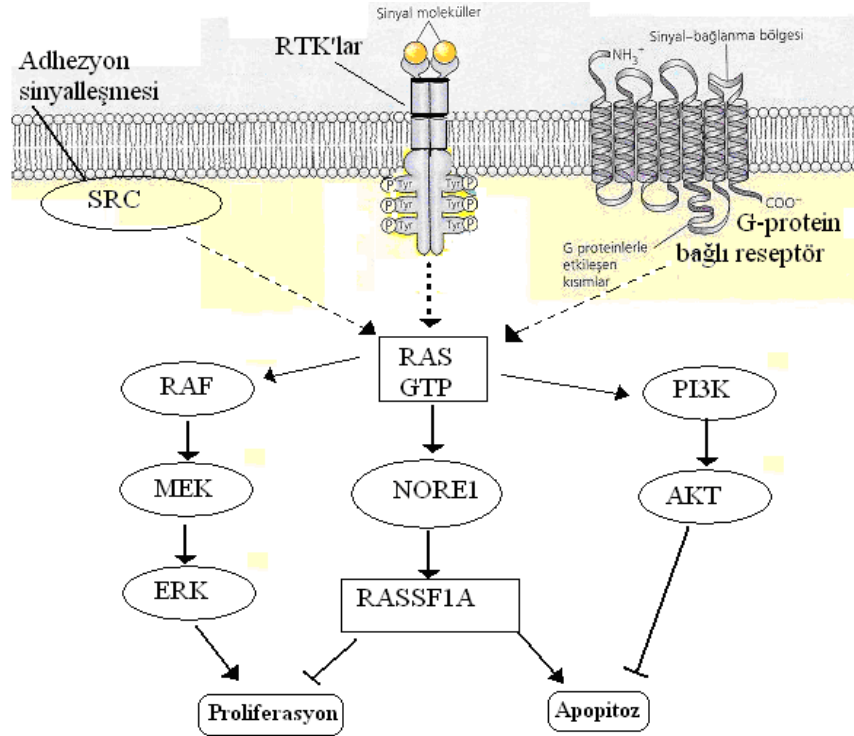
**Tablo 1. Kanser Yollarına Genel bir Bakış**

Yolak veya Ağ	Görüldüğü Kanserler	Yolaktaki onkogen proteinler	Yolaktaki Tümör süpresörler	Açıklama
MAPK Yolağı (Standart)	Birçok	RAS,BRAF, (MYC)		Onkogenik reseptör tirozin kinazların efektörleridir
PI3K Yolağı	Birçok	PI3K, AKT	PTEN,CTMP	Onkogenik reseptör tirozin kinazların efektörleridir
TP53 ağı	Birçok	MDM2/HDM2	TP53,ATM,BAX	
RB1 ağı	Birçok	Cyclin D1,CDK4, (MYC)	RB1.p16 <sup>INK4A</sup> , p15 <sup>INK4B</sup> , p57 <sup>KIP2</sup>	
TGFβ Yolağı	Karsinomlar, bazı yumuşak doku kanserleri, bazı lösemiler		TGFβRII, SMAD2, SMAD4, RUNX	Karsinomda inaktive olmuş, yumuşak doku kanserinde aktive olmuştur.
JAK/STAT Yolağı	Bazı karsinomlar, birçok lösemi ve lenfomada	STAT3, STAT5(?)	STAT1(?), SOCS1	Onkogenik Sitokin Reseptörleri ve füzyon proteinlerinin efektörleridir
NFκB Yolağı	Bazı lösemiler, birçok karsinomlar	REL proteinleri	CYLD	Etki büyük oranda hücre tipi ve içeriğine bağlıdır.
WNT Yolağı	Kolon,karaciğer,meme ,mide ve diğer karsinomlarda	WNT1, β-Catenin	APC,AXIN	E-Kaderin ve SFRP'lerce modüle edilir
SHH Yolağı	Spesifik deri,beyin ve akciğer kanserleri	SHH(?),SMO, GLI1(?)	PTCH1,PTCH2 SUFU	
NOTCH Yolağı	T-hücre lenfomaları, karsinomlar	NOTCH1	NOTCH1	Etki büyük oranda hücre tipi, içeriği ve gen dozajına bağlıdır.

## 2- BİR KANSER YOLAĞI OLARAK MAPK SİNYAL YOLAĞI

MAPK sinyal yolu, normal hücrelerde olduğu gibi birçok kanser hücresinde de proliferasyon için gerekli olan RAF, MEK ve ERK proteinlerinden oluşmaktadır. Normal hücrelerde büyüme faktörlerince aktive edilmiş reseptör tirozin kinazlarca (RTK lar) oluşturulan sinyalleri nukleusa ileterek gen ekspresyonunun aktivasyonuna yol açarlar. Geniş bir aralıkta yer alan çok çeşitli diğer ekstra ve intraselüler uyarılarca da aktive edilebilirler ve değişmiş gen ekspresyonuna ilave olarak etkiyi ortaya çıkarırlar. Tümör hücrelerinde, RTK lar veya RAS'ın onkogenik aktivasyonu sonucu MAPK sinyalleşmesi sıklıkla artmıştır. Bu MAPK yolağı aynı zamanda klasik mitojenik kaskad veya standart yolak olarak ta düşünölmektedir.

Gerçekte, bu yolak, herbiri bir MAP kinaz (ERK1/2 gibi), bir MAPK kinaz (MEK1/2 gibi), ve bir MAP kinaz kinaz (RAF1, ARAF, veya BRAF gibi) ları içeren yaklaşık 6 benzer modölden biridir. Diğer MAPK modölleri büyüme faktörü aracılı ekstraselüler sinyalleri olduğu gibi, G-proteinleri aracılığı ile çalışan hormonlar ve sitokinlerden gelen sinyalleri de yanıtlarlar. Standart yolak gibi, bu modöller hücre proliferasyonunu, apoptozu, hücre farklılaşmasını veya spesifik hücre fonksiyonlarını uyarabilir. Bununla birlikte hiçbiri direk olarak hücre proliferasyonunun kontrolüne ve kanserde standart yolak olarak dahil olmaz. En iyi çalışılmış paralel yolaklar (Şekil 1), transkripsiyonal aktivatör JUN'un fosforilasyonuna yol açan MEKK1, MEK4 ve JUN (JUN N-terminal kinaz) dan oluşurlar.

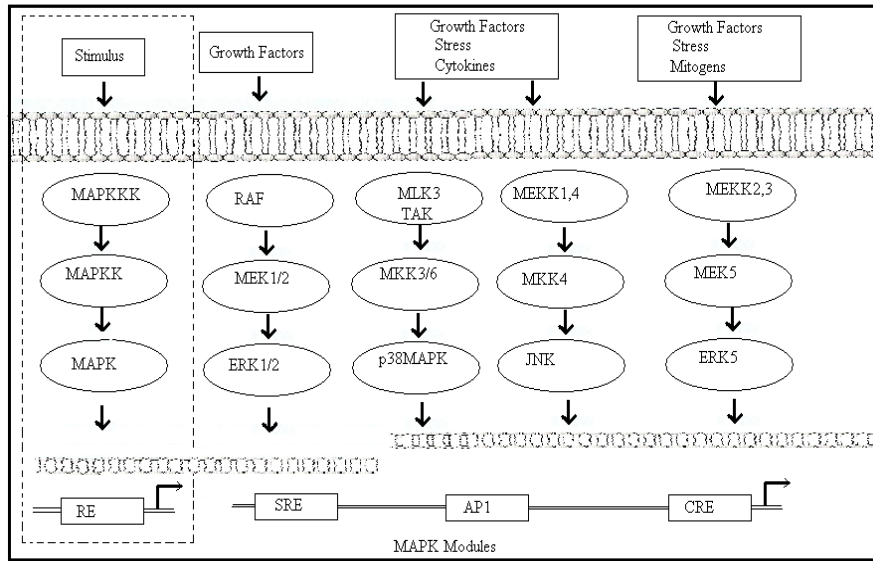


**Şekil 1.** MAPK modülleri. Soldaki kutu MAPK modüllerinin genel işleyişini göstermektedir. Sağ tarafta ise çeşitli gerçek modüller şematize edilmiştir. Gerçekte gösterilenlerden çok daha fazla çeşit mevcuttur (örneğin JNK'nın bilinen 5 izozimi mevcuttur) ve aralarında çapraz sinyalleşme gerçekleşebilir. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

Bu yolak, özgün olarak UV ışınması ve ısıdan kaynaklanan strese veya belli sitokinlere yanıtta RAS proteinlerince aktive edilir. Alternatif olarak RAC veya CDC42 gibi hücre adhezyon sinyallerini yanıtlayan diğer GTP-bağlayıcı proteinler, yolağı MEKK1, 2 veya 3 aracılığı ile aktive ederler. Bu MAPK yolağının aktivasyonunun sonucu genellikle bir stimulasyondan ziyade hücre proliferasyonunun durdurulması şeklindedir. Bazı durumlarda apoptozu uyarabilir. Buna göre, JNK yolağının bazı kanserlerin gelişiminde önemli olduğu görülmektedir fakat aşırı aktiviteden ziyade sıklıkla down-regülasyonu

söz konusudur. İnsan kanserlerinde bileşenleri arasında primer bir mutasyon hedefini içeriyor gibi görünmemektedir. İlginçtir ki farklı MAPK yolları arasında örneğin MAPKK'lar seviyesinde çeşitli çapraz iletimler mevcuttur. Bunlara ek olarak JUN proteini transkripsiyonal olarak ERK MAPK yolağınca uyarılırken; JNK MAPK yolağının aktivasyonu sonucu fosforile edilir. Böylece, normal hücre proliferasyonu esnasında bu iki MAPK yolağı sinerjistik olarak çalışırlar.

Hem ERK ve hem de JNK MAPK yolları RAS proteinlerince aktive edilebilirler (Şekil 2).



**Şekil 2.** Hücre sinyalleşmesinde bir kavşak olarak RAS: RAS'ın aktivasyonu çeşitli upstream sinyaller sonucunda gerçekleşir ve aktive ras proteininden sırayla çeşitli yollar harekete geçer. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek alınmıştır).

RAS-GTP, MEKK'ler seviyesinde aktivite görerek RAF veya MEKK1 proteinlerini hücre membranına yönlendirerek onları otoinhibisyondan kurtarır.

RAS proteinleri, diğer kanser yollarının elzem bileşeni olan PI3K'nin aktivasyonu için indirek olarak G-proteini RAC üzerinden aktivite gösterirler.

RAC'a ek olarak RAS proteinleri RAL ve RHO gibi diğer benzer küçük G-proteinlerini de GTP exchange faktör (GEF) veya GTPase aktive edici proteinlerini (GAP) aktive etme yoluyla regüle eder. Bu rotalar ile RAS'ın hücre iskeletinde değişikliklere yol açarak bunun sonucunda onkogenik RAS'ta yaygın olarak görülen hücre şekli, adhezyon ve migrasyona sebep olduğu düşünülmektedir.<sup>1,2</sup>

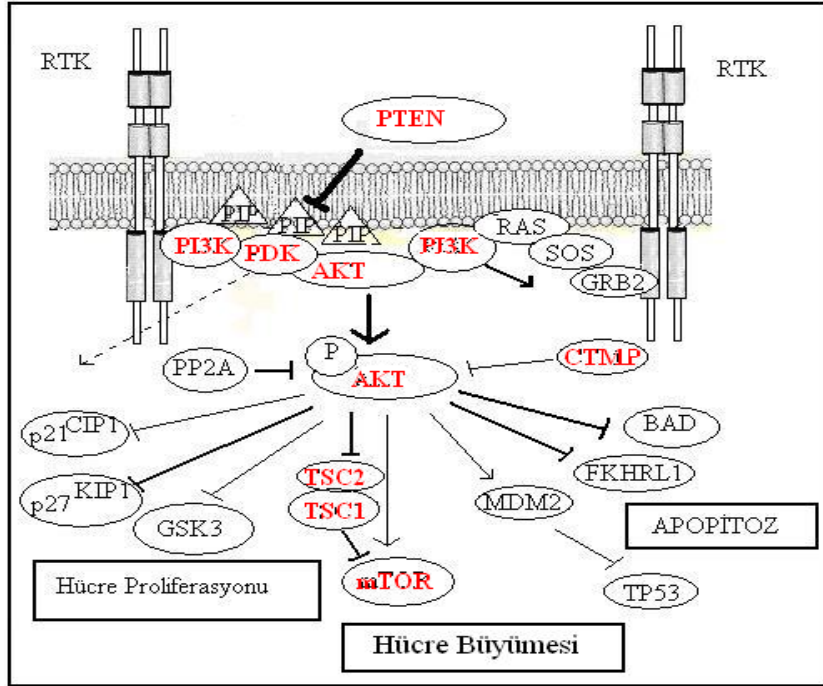
Açıkçası bu değişikliklerin tümör hücresinin davranışını in vivo da etkilediği düşünülmektedir. PI3K yolağında RAS'ın aktivasyonu normalde otonom bir olay olmadığından bu kanserlerde oldukça önemlidir. İnsan kanserlerindeki yüksek RAS mutasyonu prevalansı, kanser hücrelerinin temel özellikleri ile ilişkili çeşitli yolların merkezi regülatörü fonksiyonu ile açıklanmıştır. Bu çeşitli etkiler arasında, RAS'ı upstream uyaran reseptör tirozin kinazların onkogenik aktivasyonunda olduğu gibi; ERK MAPK yolağının aktivasyonu RAS mutasyonu olan kanserlerde hücre proliferasyonunun uyarılması için en elzem bileşenlerden biri gibi görünmektedir. Bu görüşü destekleyen birçok kanıttan biri, çeşitli kanserlerde özellikle melanomda öne çıkan RAS ve BRAF genlerinde karşılıklı ortaya çıkan mutasyonlardır.

JNK MAPK yolağının RAS ile aktivasyonu, diğer bir yöne yani bu proteinlerin pleiotropik fonksiyonuna işaret eder. Normal hücrelerde RAS proteinlerinin aşırı aktivitesi büyümenin durdurulması, apoptoz veya replikatif senesensi uyarabilir. Bazı hücre tiplerinde RAS'ın aktivasyonu farklılaşmayı da uyarabilir. Böylece RAS proteinleri hücre proliferasyonunu etkilemelerine ek olarak aktif durumda iken etkilerini sonlandıran veya bazı durumlarda hiperproliferasyona karşı güvenli reaksiyonlara yol açan yanıtı da uyarabilirler. Şartlara göre, JNK MAPK yolağı bu şekilde davranış sergiler. Bu tarz diğer bir mekanizma da TP53'ü stabilize eden ve RB1'in fosforilasyonunu yavaşlatan p14<sup>ARF1</sup> ve p16<sup>INK4A</sup> nın artmış transkripsiyonu ile CDKN2A'nın indüksiyonudur. Güvenilir diğer bir mekanizma da RASSF1A proteini aracılığıyla ortaya konur. Mikrotübüllere bağlanarak mitozu bloke eden bu protein kromozom 3p21.3'teki kompleks bir lokus tarafından kodlanır. 3p'nin kaybı clear cell karsinomda ve birçok diğer karsinomda yaygın bir bulgudur.

Bunun dışında, RASSF1A geniş bir aralıktaki insan kanserlerinde promotor hipermetilasyonu ile inaktive edilir. RAS proteinleri daima aktif büyüme reseptörlerinden gelen sinyallerce aktive edildiklerinden, reseptör tirozin kinazların onkogenik veya fizyolojik aktivasyonu, RAS proteinlerinin downstream yönünde MAPK yolağının spesifik bir aktivasyonu gibi birçok etkiye aracılık ederler. Gerçekte, RAS proteinleri sadece reseptör tirozin kinazlarca sinyallere aracılık etmezler aynı zamanda serpentin reseptörü aracılı G-proteinleri yoluyla sitokin ve hormonlara hücrel cevapta da yer alır. Diğer taraftan, reseptör tirozin kinazlar ve diğerleri MAPK, PI3K ve daha başka kanser yolaklarının aktivitesini sadece RAS yolu ile değil, çeşitli diğer mekanizmalarla da düzenlerler.

### **3-PI3K YOLAĞI**

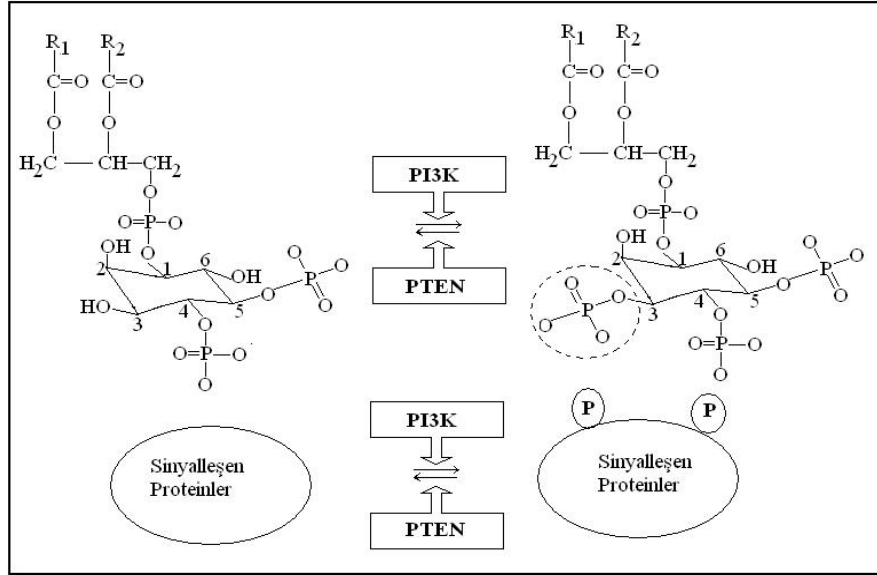
PI3K yolağı hücrel metabolizmanın kontrolünde özellikle glukoz transportu ve kullanımı, hücre büyümesinin regülasyonu, özellikle protein biyosentezi ve apoptozu önlemede fonksiyon görürler. Yolak RAS proteinleri ve aktif reseptör tirozin kinazlarca uyarılır, fakat aynı zamanda RAS'ın downstream yönünde yolağa geri bildirim yapar (Şekil 3).



**Şekil 3.** PI3K yolağı: Hücre proliferasyonu ve büyümesini uyararak veya apoptozu uyararak PI3K yolağında merkezi olaylar. AKT'nin fosforilasyonundan sonra etki gösteren PKD ve PI3K detaylı gösterilmemiştir. AKT'nin etkisi çoğunlukla fosforilasyonla olur. Temel PI3K yolağı bileşenleri kırmızı renkle yazılmıştır. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

Klasik bir tümör süpresör olan PTEN, temel inhibitör bileşeni olduğundan bir kanser yolağı olarak tanınmıştır. Bir insan tümör sendromunda etkilenen iki protein olan TSC1 ve TSC2 yolağın ara basamaklarına aracılık ederler. Bundan başka bazı durumlarda PI3K, onkogenik bir protein olarak gösterilir. Örneğin, ovaryum kanserlerinde bu gen amplifiye olmaktadır. Kısaltılmış hali PI3K olan Fosfatidil inositol fosfat kinaz enzimi, membran fosfolipidlerinden fosfatidil inositol (PI), PI(4)P, ve PI(4,5)P yi (fosfatidil inositol mono ve di fosfat) fosforile ederek sırasıyla PI3P, PI(3,4)P ve PI(3,4,5)P ye dönüştürür (Şekil 4).





**Şekil 4.** PI3K ve PTEN tarafından katalizlenen reaksiyonlar. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

PI3K'nın birçok farklı izoenzimi vardır ve bunlardan PI3K $\alpha$  kanser ile en ilişkili olanıdır. PI3K $\alpha$  protein kinaz aktivitesine de sahiptir fakat substratları henüz iyi tanımlanmamıştır. p110 adı verilen bir katalitik alt ünitesi ve bazal durumda katalitik alt ünitenin aktivitesini kısıtlayan p85 adı verilen regülatör alt ünitelerinden oluşan bir heterodimerdir. Reseptör tirozin kinazın aktivasyon ve otofosforilasyonunu takiben, PI3K heterodimeri, p85'in SH2 domaini aracılığı ile tirozin fosfata bağlanarak katalitik alt ünitenin aktivasyonuna yol açar. Bu olay aynı zamanda bağımsız ve sinerjistik olarak RAS-GTP ile direkt etkileşim ile uyarılır. Lipid fosforilasyonu, plazma membranının iç yüzünde PI(3,4,5)P<sub>3</sub> üretir. Bu durum bir plekstrinhomoloji (PH) domaini içeren proteinler için bağlanma bölgeleri yaratır, böylece bu yol ile membranda yer değiştirebilirler. Bu şekilde çok sayıda protein vardır, bunların arasında RAC için GEF'ler ve diğer RAS benzeri proteinler, hücre iskeleti organizasyonuna

dahil olurlar<sup>1,2</sup>.

Gerçek PI3K yolağı (Şekil 3), PKB olarak bilinen protein kinazlar PDK1 ve AKT boyunca ilerler. PDK1, PI(3,4,5)P'ye bağlanarak direk olarak aktive edilirken, AKT aktive olabilmek için PDK1 tarafından fosforile edilmeye ihtiyaç duyar. PDK1, aynı zamanda ERK MAP kinazlarında hedefi olan PKC izoenzimξ ve p70<sup>S6K</sup> yı da içeren daha başka protein kinazları da aktive eder. Bununla birlikte, yolağın temel efektörü AKT protein kinazdır. PDK1 tarafından aktivasyonunu takiben, çok çeşitli proteinleri fosforile edebilir. Temel substratı olan mTOR, EIF4 basamağının translasyonunun başlatılmasını kontrol eden bir protein kinazdır. Böylece PDK1 ve AKT nin kombine aktivitesi protein sentezinde bir artışa yol açar. Bu etki, birçok dokuda insülin ve insülin benzeri büyüme faktörlerinin (IGFs) anabolik aktivitesinde önemlidir fakat aynı zamanda hücre proliferasyonunun ön koşuludur ve bu nedenle tümör büyümesi için merkezi bir role sahiptir. AKT aktivitesi, potansiyel bir tümör süpresör olan CTMP (C-terminal membran proteini) tarafından antagonize edilebilir. Rapamycin, mTOR kinazını spesifik olarak inhibe ettiğinden "mTOR" kısaltması "rapamycin'in memelilerdeki hedefi" için kullanılır. Fizyolojik olarak mTOR, TSC1/TSC2 protein kompleksince inhibe edilir. TSC1 ve TSC2, aynı zamanda Tuberin ve Hamarin olarak adlandırılırlar. Her 6000 kişiden birini etkileyen bir otozomal dominant hastalık olan tuberous sclerosis'te bu proteinlerden biri mutasyona uğramıştır. 9q34 ve 16p13 sitobantlarına lokalize TSC genleri, klasik tümör tüpresör genler gibi davranırlar. Yani etkilenmiş bireylerde, TSC geninin bir kusurlu kopyası kalıtılır. İkinci allelin mutasyonu hamartom'lara yol açar. Hamartomlar genellikle beyin, kalp, akciğer ve böbrekleri içeren çeşitli organlarda farklı bağ doku bileşenlerinden oluşan küçük benin tümörlerdir. Karsinomlar genellikle bu sendromda bulunmasada, TSC1 geni idrar torbası ve belki de renal karsinomlara da dahil olabilir. Büyüme esnasında, mTOR'un TSC proteinlerince inhibisyonu, büyük TSC2 proteininin AKT protein kinazınca Ser939 ve Thr462 den fosforilasyonu ile hafifletilir. TSC de fonksiyon kaybı mTOR da aşırı aktiviteye yol açar, şimdilerde rapamycin'in bu şartlarda tedavi edici etkileri araştırılmaktadır.

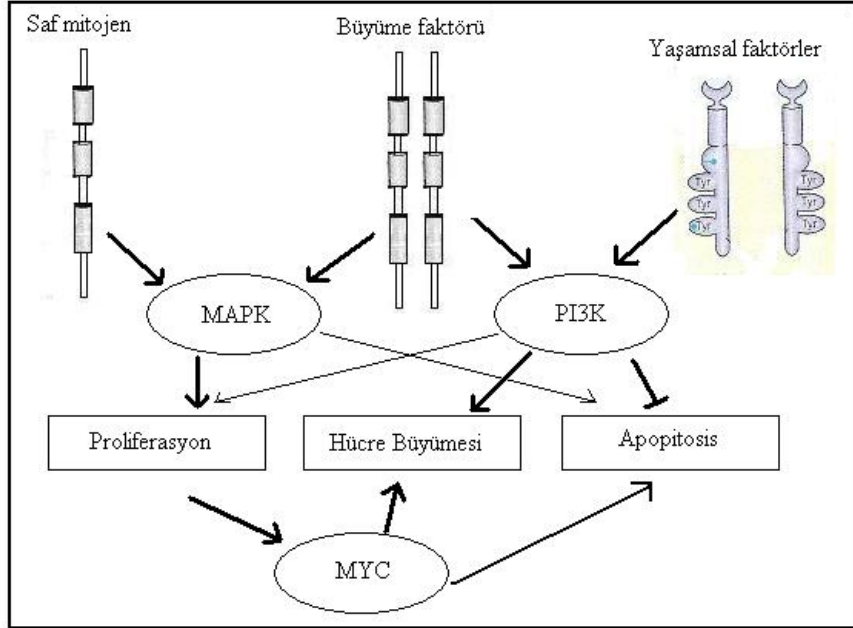
TSC genlerindeki mutasyonun yol açtığı tümör sendromu, PI3K yolağınca hücre büyümesinin uyarılması ve protein sentezinin aktivasyonunun önemini vurgulamaktadır. Bu yolağın daha başka fonksiyonları da vardır. 10q23.3 te lokalize PTEN genindeki mutasyonların yol açtığı herediter Cowden tümör sendromunda bu durum gösterilmiştir. PI3K'nın bir lipid kinaz ve protein kinaz olduğu gibi, bu genin ürünü de bir lipid ve protein fosfatazdır. PTEN, PI3K ya antagonistik olarak fosfatidil inositolün 3. pozisyonundaki fosfatları hidrolitik olarak uzaklaştırır (Şekil 4). TSC genlerindeki mutasyonlar gibi, germ-line PTEN mutasyonları çoklu hamartomlara yol açar. Fakat tuberous sclerosis'ten farklı olarak Cowden sendromu, kolon ve meme kanserleri gibi belli yaygın kanserler için risk taşır. PTEN geninin delesyon, mutasyon ve inaktivasyonu, çok sayıda farklı sporadik kanserlerde de gözlenmiştir. İnaktivasyonu durumundaki geniş aralıktaki kanserler PTEN'i en önemli tümör süpresörlerden biri haline getirmektedir. Tipik olarak, sporadik kanserlerde PTEN kaybı, tümör gelişimi ve daha agresif bir klinik ile ilişkilidir.

AKT protein kinazı, sadece protein sentezini uyarmakla kalmaz, aynı zamanda hücre proliferasyonu ve sağkalımını da uyarır. Hücre sağ kalımı çeşitli yollarla teşvik edilir. FKHR-L1 gibi replikasyon çatalı transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu, proapoptotik ve büyüme inhibitörü genler için transkripsiyonal aktivasyonlarını önler. Önemli bir apoptoz aktivatörü olan BAD' ta AKT tarafından fosforile edilerek inhibe edilir. Bu durumlarda AKT tarafından fosforile edilen proteinler 14-3-3 proteinlerince tanınırlar. Protein kompleksi sitozolde tutularak, FKHR-L1'in nukleusa girişi ve BAD'ın mitokondriyal proteinler ile etkileşimi engellenir. Aynı mekanizma ile, AKT'nin fosforilasyonu, hücre döngüsü inhibitörü p27<sup>KIP1</sup> in aktivitesini sınırlar. AKT, MDM2 yi aktive ediyor gibi görüldüğü için TP53 aktivitesini azaltıyor olabilir. Glikojen sentaz kinaz 3'ün (GSK3) AKT tarafından fosforilasyonu, hücre proliferasyonu üzerine daha başka etkiler sonucunu doğurur. Adından da anlaşılacağı gibi bu enzim, glükoz metabolizmasının önemli bir regülatörü ve insülin aktivitesinin temel hedefidir. Buna ek olarak, Cyclin D1 ve MYC' i fosforile ve inhibe ederek hücre proliferasyonunu düzenler. Belki de en önemli

fonksiyonu, kolon kanserlerinde özellikle önemli olan WNT yolağında  $\beta$ -katenin seviyelerinin düzenlenmesindeki fonksiyonudur.

Özet olarak, hücre proliferasyonu esnasında PI3K yolağı, MAPK yolağının tamamlayıcısı olarak gereklidir (Şekil 5).

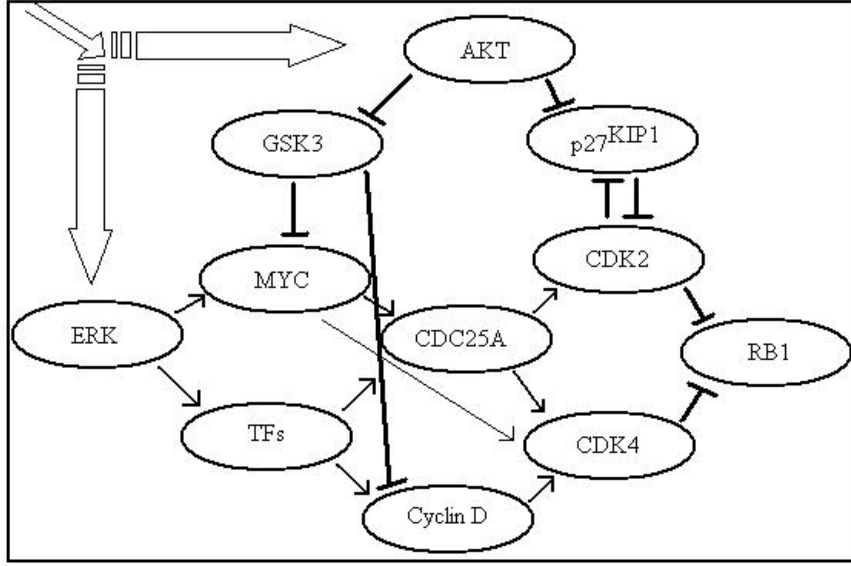
Basitleştirecek olursak, MAPK yolağı, hücre proliferasyonunu (örn. DNA sentezi ve mitoz) uyarır, fakat izole MAPK uyarımının sebep olduğu pro-apoptotik önleyen ve hücre büyümesi (protein biyosentezini de içeren) için gerekli uyarıları sağlayan PI3K yolağındaki gibi ilave sinyallere gereksinim duyar. Hücre proliferasyonunun büyüme faktörleri tarafından uygun bir şekilde uyarılması bu iki yolağın koordine bir şekilde aktivasyonu ile olur. Alternatif olarak, belli büyüme faktörleri, IGF1 ve IGF2 gibi insülin ailesinin öne çıkan üyeleri tercihli olarak PI3K yolağını uyararak primer olarak "yaşamsal büyüme faktörleri" gibi görev görürler. MAPK yolağında predominant olarak çalışan büyüme faktörlerini bu şekilde çalışarak tamamlarlar. Buna göre tümör hücrelerinde mutasyonlar MAPK yolağında yapısal aktivasyona yol açarlar, bu durum yaşamsal büyüme faktörlerinin artmış aktivitesi veya PI3K yolağındaki mutasyonlarla tamamlanabilir ve tüm bunlar PTEN fonksiyonunu bozabilir.



**Şekil 5.** PI3K ve MAPK yollarındaki sinerjizm: çoğunlukla reseptör tirozin kinazlarla çalışan büyüme ve yaşamsal faktörlerce aktive edilen iki yolağın etkileşimleri basitçe şematize edilmiştir. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

#### 4-HÜCRE DÖNGÜSÜNÜN MAPK VE PI3K YOLAKLARINCA DÜZENLENMESİ

Normal hücre proliferasyonu sıklıkla MAPK ve PI3K yollarının koordine aktivasyonunu gerektirir. Bu yollar beraberce artmış metabolizma, artmış protein sentezi, hücre iskeletinin yeniden organizasyonu, proapoptotik sinyallerin inhibisyonu, ve tabii ki hücre döngüsü ilerlemesinin G1/G<sub>0</sub> dan S-fazına geçişinin uyarılması gibi birtakım değişiklikleri sağlarlar. Birçok mekanizma bu son etkiye ulaşmak için sinerjistik olarak çalışırlar (Şekil 6).



**Şekil 6.** Hücre döngüsünün, MAPK ve PI3K yollarının koordineli etkisi ile aktive edilmesi. Mitojenik sinyallerle aktivasyonu takiben (üst sol köşe), yollar, hücre döngüsünü S fazına ilerleten uyarım için etkileşime girer. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

MAPK aktivasyonu sonucunda nukleusa translokasyonu takiben aktif ERK protein kinazlar, hücre döngüsü ilerlemesine dahil olan çeşitli transkripsiyonal aktivatörü fosforile ederler. Buna ek olarak ERK kinazlar, pp90<sup>RSK</sup> kinazlarını fosforile ederek nukleusa transloke olmalarını ve diğer bir transkripsiyonal aktivatör setini fosforile etmelerini sağlarlar. En önemli hedefler arasında bulunan SRF, ETS1, ELK1 ve MYC faktörlerinin hepsi bu tip fosforilasyon ile uyarılırlar ve tabiki AP1 komponenti olan FOS ve JUN da transkripsiyonal düzeyde uyarılırlar.

Birçok hücrede, bu olayların önemli bir sonucu Cyclin D transkripsiyonudur. Cyclin D'nin birikimi G1 periyodundaki hücrelerin çoğunda hücre döngüsü ilerlemesini sağlar. Cyclin D'nin GSK3 tarafından fosforile edilmesi degrade olmasına ve aktivitesinin önlenmesine yol açar. GSK3'ün AKT tarafından fosforile edilmesi ile bu inhibitör fosforilasyon bloke edilir. Cyclin D'nin

koordineli aktivasyonu MAPK ve PI3K yolları arasındaki sinerji için önemli bir noktadır. MAPK yolağının stimülasyonu sonucu aktive olan diğer genler CDC25A ve -daha az yoğunlukta- CDK4 tür. Fosfataz, CDK4 ve CDK2'den inhibitör threonin fosfatları uzaklaştırdığı için CDC25A fosfatazın uyarılması, CDK4 aktivitesini arttırmak üzere Cyclin D'nin birikimi ile sinerjistik olarak çalışır. CDK4/Cyclin D holoenzimi biriktiğinde CDK2'den farklı olarak daha fazla p27<sup>KIP1</sup> bağlar. Hücre döngüsünün bu aşamasında Cyclin E birikmeye başladığı için sonuç olarak CDK2/Cyclin E enziminin aktivitesi artar. Cyclin E geni promotörü E2F1 tarafından aktive edilir. Böylece RB1'in hiperfosforile ve daha az E2F'i inhibe etme kapasitesine sahip olması, daha çok Cyclin E üretimine dolayısıyla daha yüksek CDK2 aktivitesine yol açmaktadır. Bu otokatalitik ilmi, nihayetinde S-fazına geriye dönüşü olmayan bir ilerlemeye yol açar, fakat bu durum p27<sup>KIP1</sup> tarafından sınırlandırılır.

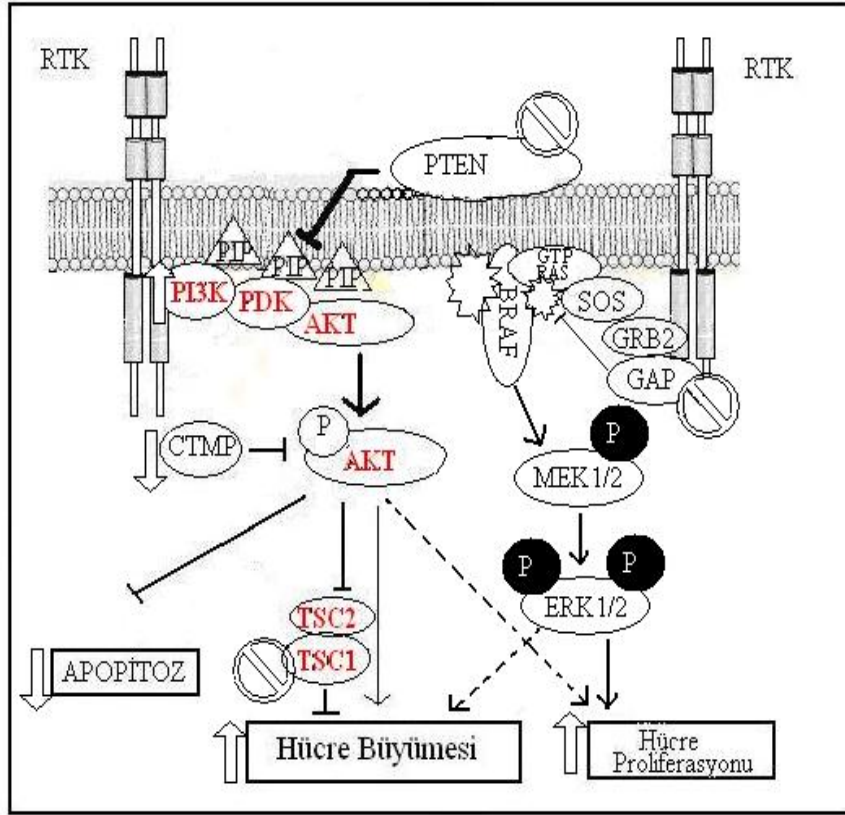
CDK2'nin tamamen aktive olması için p27<sup>KIP1</sup> inhibitörünün uzaklaştırılması gerekir. Bu da ardışık fosforilasyon, oligo-ubikitinasyon ve proteolitik degradasyon ile sağlanır. Normal hücrelerde, p27<sup>KIP1</sup> in down regülasyonu, CDK2 bazı inhibitör proteinleri fosforile etmek üzere yeterince aktif olduğu zaman hızlanan aşamalı bir prosestir. Böylece başka bir otokatalitik ilmi p27<sup>KIP1</sup> i fosforile etmek üzere daha çok CDK2 serbest kalacaktır. Bu prosesin olmazsa olmaz bileşenlerinden biri MYC'tir. MYC birçok büyüme faktörüne uyarılır, fakat yarı ömrü ve aktivitesi de yine fosforilasyon ile düzenlenir. Ser62'den ERK fosforilasyonu artmış stabilite ve aktiviteye yol açarken, Thr58'den GSK fosforilasyonu karşıt etki gösterir. Böylece, GSK'nın AKT tarafından inhibitör fosforilasyonu yine MYC'i aktive etmek üzere MAPK aktivasyonu ile sinerjistik olarak çalışır. MYC'in aktivasyonu Cyclin D1, CDK4 ve CDC25A'nın transkripsiyonunun artmasına katılır ve p27<sup>KIP1</sup> in transkripsiyonunda küçük bir azalmaya yol açar. Dahası, MYC p27<sup>KIP1</sup> i ubiquitine eden protein kompleksinin bir bileşeni olan CUL1'i uyarır. Hemen hemen PI3K'nın aktivasyonunun sonucuna benzer şekilde p27<sup>KIP1</sup> in transkripsiyonunu azaltan diğer mekanizmalarda dahil olmaktadır. Böylece, MYC ve p27<sup>KIP1</sup> in regülasyonu yollar arasındaki sinerjinin başka bir

boyutudur.

Normal hücre proliferasyonu esnasında MAPK ve AKT yollarının aktivasyonunun eşlik etmesi ile hücre döngüsünün regülasyonu üzerine uygulanan sinerjizmler kanserde gözlenen değişimler olarak yansır (Şekil 7).

Aşırı aktif reseptör tirozin kinazlar heriki yolağı da aktive etme kapasitesinde olduklarından potansiyel onkogenler olabilirler. Onkogenik RAS'ta daha az etkili de olsa heriki yolağı aktive edebilir. Dönüşümlü olarak, onkogenik MYC, hücre büyümesini ve hücre döngüsünün ilerlemesini uyarda daha etkili iken (daha kapsamlı bir anlamda), IGF peptidleri veya RAS mutasyonları gibi PI3K yolağını aktive eden faktörlerce önlenen apoptoza girmelerini de sağlar. Bu durum, rodent hücrelerinin transformasyon deneylerindeki RAS-benzeri ve MYC-benzeri onkogenlerin kooperasyonunu açıklar. Bu kooperasyon birçok insan kanserinde gözlenir.





**Şekil 7.** İnsan kanserlerinde MAPK ve PI3K yollarındaki değişimlerden bir görünüm. MAPK (sağ) ve PI3K (sol) yollarındaki değişimler, hücre proliferasyonunu ve büyümesini arttırmak ve apoptozu azaltmak için sinerji içinde çalışırlar. İnhibisyon işareti: delesyon, mutasyon ve/veya promotor hipermetilasyonu ile inaktivasyonu; Patlama işareti ise mutasyon ile aktivasyonu; aşağı yöndeki oklar azalmayı, yukarı yöndeki oklar ise artışı göstermektedir. Her iki yolağın aktivitesi aynı zamanda reseptör tirozin kinazların aşırı aktivitesi ile uyarılır veya kısmen özellikle MYC ailesinde olduğu gibi transkripsiyon faktörlerinin onkogenik aktivitesi tarafından taklit edilebilir (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

Bununla birlikte bu değişim kombinasyonları daha başka güvenli mekanizmalarca önlendiği için muhtemelen insan kanseri sebebi olmak için yeterli değildir. Bunlardan en önemlilerinden biri, insan hücrelerinin sürekli ve hızlı büyümesi esnasında, TP53'ün hiperproliferasyon sinyallerince ve p16<sup>INK4A</sup> ve p21<sup>CIP1</sup> gibi CDK inhibitörlerinin birikimi ile aktivasyonu olabilir. Bu güvenlik mekanizmaları bazı durumlarda apoptoza fakat daha tipik olarak ta replikatif senesense yönlendirir. İnsan kanserlerinin gelişiminde bir noktada artık bu mekanizmaların inaktive edilmesi gerekir. İnaktivasyon için en radikal yol hem RB1'in hem de TP53'ün kaybıdır. Sık görülen diğer bir mekanizmada p16<sup>INK4A</sup> ve p14<sup>ARF</sup>, kodlayan CDKN2A lokusunda delesyondur. Buradaki önemli nokta, hiperproliferasyona karşı koruyucu mekanizmaların inaktivasyonu bu değişimlerin en önemlisi olabilir, bunlar tümör hücrelerinin eksternal büyüme faktörlerine bağımlılığını azaltıp genetik instabilite toleransını arttırabilirler.

Böylece, MAPK ve PI3K yollarında artmış yapısal aktiviteye yol açan değişimler bazı durumlarda kendini kısıtlayıcı olabilir. En azından, daha agresif bir fenotipe sürükleyen daha başka değişiklikleri destekleyen güçlü bir seleksiyon baskısı uygularlar. Bu ilerleme tarzı, birçok insan kanserinde, karsinomda ve hematolojik kanserlerde gözlenir.

##### **5- MAPK ve PI3K YOLAKLARININ MODÜLATÖRLERİ**

MAPK ve PI3K yollarının hücrede, çeşitli protein kinazları, transkripsiyon faktörlerini, hücre iskeleti proteinlerini, ribozomlarda görev yapan proteinleri ve apoptotik regülatörleri etkileyen birçok etkileri vardır. Reseptör tirozin kinazlardan gelen sinyaller dışında birçok diğer uyaran tarafından da dönüşümlü olarak aktive edilir. Bu uyaranlar arasında sitokin reseptörler, G-protein bağlı serpentin reseptörleri ve çeşitli hücre adhezyon moleküllerini sayabiliriz.

Hücre-içi sinyal yolunun bu bölümü bünyesinde, birçok ilave protein kinazı ve diğer enzimleri bulundurur. Birçoğu retroviral onkogenler olarak oldukça değişmiş bir halde bulunmuştur, fakat insan kanserlerinde nadiren onkogen

veya tümör süpresör olarak ortaya çıkarlar. Bununla birlikte bu proteinler insan kanserlerinde tümör hücrelerinin tipik özelliklerini sağlamak ve MAPK ve PI3K 'kanser yolaklarının' modülatörü olarak oldukça önemlidirler. Reseptör tirozin kinazların çoğu (RTK) ve bazı G-protein bağlı reseptörler (GPCR) RAS'ı aktive etme yolu ile MAPK kaskadını aktive ederler. Birçok GPCR ve bazı RTK'lar, bu aktivasyonda fosfolipazları görevlendirirler, tipik olarak GPCR'lerde PLC $\beta$  ve RTK'larda PLC $\gamma$ dır. Bu fosfolipazlar membranda fosfatidil inositol bifosfatı diaçilgliserol ve inositol trifosfat (IP $_3$ ) oluşturmak üzere yıkarlar. IP $_3$ , sitozolik Ca $^{2+}$  seviyelerini regüle eden ikinci ulak (messenger) moleküldür ve bunun yanında metabolizma, transkripsiyon ve hücre iskeleti durumu da olmak üzere birçok farklı hücre fonksiyonu etkiler. PLC reaksiyonu ile serbest bırakılan diaçilgliserol, PKC olarak adlandırılan bir protein kinaz sınıfına bağlanarak aktive eden bir sinyal molekülüdür. İnsanlarda farklı doku dağılımı ve ösgüllüğünde olan 10'un üzerinde üyeleri mevcuttur. En yaygın görülen üyeleri PKC $\alpha$  dır. Bu enzim, klasik PKC $\beta$  ve PKC $\gamma$  izoenzimleri gibi diaçilgliserol ve Ca $^{2+}$  tarafından sinerjistik olarak aktive edilir. Yaygın olarak görülen diğer izoenzim PKC $\delta$ (delta) Ca $^{2+}$  seviyelerinden bağımsızdır. PKC tarafından temsil edilen diğer bir sınıf, her iki aktivatörden de bağımsızdır. Diğer birçok protein kinaz gibi PKC'ler modüler bir yapıdadır. ATP ve substrat bağlayıcı bölge içeren katalitik domeyn, normal olarak proksimal regülatör domeynden psödosubstrat ile inhibe edilir. Klasik PKC izoenzimlerinde regülatör bölge, diaçilgliserol ve kalsiyum iyonları için bağlanma bölgeleri içerir. Heriki aktivatörle bağlanma otoinhibisyonu durdurur. RAF, PDK ve AKT gibibirçok PKC, plazma membranının iç tarafında aktive edilir<sup>1,2</sup>.

PKC'lerin diaçilgliserol bağlanma bölgesi, forbol myristil asetat (PMA) adı da verilen tetradecanoil forbol asetat (TPA) gibi forbol esterleri de tanır. Bitkilerden elde edilen bu bileşik, güçlü bir irritanttır ve bazı hücrelerde proliferasyonu uyarır. Mutajenik olmadığı halde hayvan deneylerinde, deride tümör büyümesini teşvik eder. Yani bir "tümör promotörü" prototipidir. Bununla birlikte, etkisi dokuya bağlı ve dokuya spesifiktir. Bu durum mevcut olan PKC

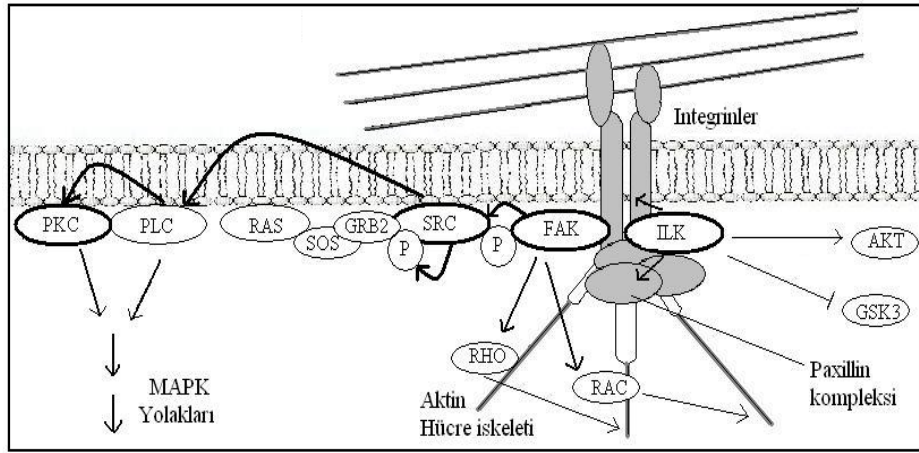
tipi ve özel bir dokuda proliferasyonun regülasyonu için ne kadar önemli olduğu ile ilişkilidir. PKC'ler, diğer ligandlarla da bağlanıp reaksiyona girebilirler.

PKC'ler bireyin izoenzimlerine göre farklılık gösteren geniş bir aralıkta substratları olan serin/threonin protein kinazlardır. PKC $\alpha$  ve PKC $\epsilon$  gibi PKC'ler RAF'ı fosforile edebildiği için RAS ile sinerjistik olarak veya bağımsız olarak MAPK kaskadının uyarılmasına aracılık edebilirler. MARCKS gibi hücre iskeleti proteinlerini fosforile ederek aktin hücre iskeleti yapısını etkilerler. Bu durum direk olarak PKC'ler tarafından regüle edilen hücre hareketliliği ve transport işlemlerini etkiler. PKC'ler VDR gibi nükleer reseptörleri de fosforile ederler. PKC'ler kısmen de olsa EGFR'yi de içeren reseptör tirozin kinazları fosforile ve regüle edebilir. Aslında, PKC'ler hücrede tipik olarak, "cross-talk" olayında olduğu gibi, sinyalleri bir aktive yoldan diğerine iletmede kullanılırlar. Bu, hücre proliferasyonu ve hareketinin kontrolü ile sıkı bağlantılarına rağmen neden gerçek onkogenler olarak görünmediklerini açıklayan belirleyici görevden ziyade koordine edici olabilir. Bununla birlikte PKC'lerin inhibisyonu bazı kanser hücrelerinde proliferasyonu bloke etmez ve forbol esterlerinin aktivasyonu temelde normal ve özellikle transforme hücrelerde proliferasyonu uyarır. Bununla birlikte, PLC'ler ve PKC'ler, lenfoid hücrelerde aktivite gören TRK benzeri hücresele onkogenler ve yes gibi retroviral onkogenleri içeren çeşitli onkogenlerin etkilerinin görünüşte kritik medyatörleridir. Kanserlerin proliferasyonuna G-bağılı reseptörlerin sebep olduğu olgularda gerekli olabilirler.

PKC'ler aynı zamanda hücrede, hücre adhezyon molekülleri ile büyüme regüle edici yollar arasındaki cross-talk'un bileşenlerindedir. Sinyaller hücre-hücre adhezyonundan olduğu gibi, hücre adhezyonundan substrata doğru da ortaya çıkabilir. Hücre-hücre adhezyonuna hücre iskeletine bağlı olan ve aktivitesini etkileyen kaderinler aracılık eder. Farklı kaderinler, kanser yollarını aktive veya inhibe ederler. Birçok epitel hücrede temel kaderin olan E-kaderin,  $\beta$ -Katenin'e bağlanır ve WNT/  $\beta$ -Katenin yolağı aktivitesini bazı hücre tiplerinde sınırlar. Aynı şekilde, E-kaderin, güçlü yaşam sinyalleri

üretmek üzere PI3K yolağını aktive eder. Heriki sinyalde bir hücreyi kesin olarak nisbeten sessiz bir epitelyuma dönüştürmeye uygundur. Bazı invaziv karsinomlarda (hepsinde değil), E-kaderinler diğer farklı yolları aktive eden diğer kaderinlerce yer değiştirirler veya aşağı yönde (down-regulated) regüle edilirler.

İntegrinler ekstraselüler fibronektine bağlanarak hücre-matriks etkileşimine aracılık eder. Hücre membranının iç yüzünde fokal adhezyon bağlantılarında aktin hücre iskeleti bağlantılarının organizasyonuna bir odak noktası sağlarlar. Fokal adhezyon bağlantıları, hücre iskeleti, proliferasyonu ve yaşamını etkileyen sinyalleşme ağının merkezidir (Şekil 8).



Şekil 8. İntegrinlerden sinyalleşme.

İntegrin bağlı kinaz ILK, hücre iskeleti ve integrinler arasındaki bağlantıların sinyalleşmesini sağlar ve düzenler. Fokal adhezyon kinazı FAK, fokal adhezyonların işbirliği sinyalleşmesini sağlar. Otofosforile olur ve buna bağlı olarak SRC protein kinazların SH2 domainlerince tanınır.

SRC kinazlar, RSV'lerin v-src gen ürününün insan ortologlarıdır. Bir myristyl bağlayıcı ile plazma membranının iç yüzeyine lokalizedir. FAK'a

bağlanmadan önce aktive olur ve sırayla bu kinazın daha ileri fosforilasyonunu gerçekleştirirler. Aktive SRC'ler, SHC/GRB2 gibi adaptör proteinlere bağlanarak, RAS, PLC'ler ve dolayısıyla PKC'leri de içeren sayısız proteinleri fosforile ve aktive ederek MAPK ve PI3K yolaklarının uyarılmasına yol açarak, aktive reseptör tirozin kinazlara çok benzer davranış sergilerler. İntegrinler aynı zamanda PKC'leri direk aktive etme ve hücre iskeleti yapısını düzenleyen RAC gibi diğer küçük GTPazlar ile etkileşime girme kapasitesine sahiptirler. SRC kinazlar, viral benzerleri gibi mutasyonlu olmadıkları halde, insan kanserlerinde sıklıkla overekspresye ve overaktiftirler. Bu enzimlerin aktivasyonu, sıklıkla hücrelerin yüksek oranda invaziv ve göçücü olduğu ileri karsinom aşamaları ile ilişkili gibi görünmektedir. FAK ve ILK'ın artmış aktivitesi de bu kanserlerde gözlenmiştir. Hareket artması ve bağlanma değişikliklerine bu enzimlerin artmış aktivitesinin sebep mi olduğu yoksa sadece etkileyen faktörlerden biri mi olduğu tam olarak açık değildir. Bununla birlikte, hücre proliferasyonu bir bağlanma sinyali gerektirdiğinden, her iki durumda da aktivasyon gerekli gibi görünmektedir. Böyle bir sinyal olmaksızın proliferasyonun uyarılması, programlı hücre ölümünün spesifik bir tipi olan anoikis'e yol açar. Bağlanma değişikliği olan kanser hücresinde, sinyalleşme yolaklarının adhezyon molekülleri ile aktivasyonunun telafi edilmesi gerekli olabilir. Kanser hücrelerinin gelişimi esnasında TP53/RB1 kontrol mekanizmalarının bozulmasında olduğu gibi, uygunsuz proliferasyona karşı bu ilave bariyerden kurtulma yeteneği kazanılmakta gibi görünmektedir<sup>1,2</sup>.

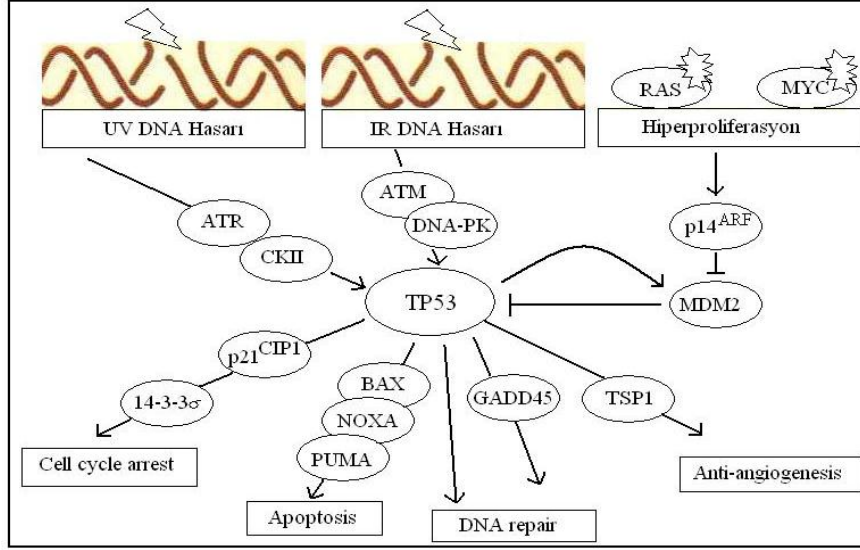
#### **6- TP53 AĞI**

TP53 proteini, TP53'ün downstream ve upstream yönlerinde diğer birçok proteinle ilişkili bir ağ içinde merkezi bir kavşak niteliğindedir. TP53 fonksiyonunu düzenleyen upstream olaylar, ATM ve DNA bağlı protein kinaz gibi DNA hasarında aktive olan protein kinazları içermektedir. Bunlar TP53'ü N-terminalinden fosforile ederek, aynı zamanda yarı ömrünü arttıran işlemlerden olan transkripsiyonel aktivitesini arttırıp HDM2 tarafından inhibisyona hassasiyetini azaltırlar. Ör. Sitostatik antimetabolit tedavisinin

ardından hipoksi, nükleotid metabolizmasında dengesizlik gibi diğer hücrel stres tiplerinde de TP53 aktive olur.

Uygunsuz hücre proliferasyonu durumlarında daha başka birçok mekanizmalardan oluşan bir set, TP53'ün aktivasyonunu kontrol eder. Gerçekte ilişkiler karmakarışıktır. Hücre döngüsüne giren birçok hücrede, TP53 geni çok daha fazla transkribe edilmektedir. Bu durum, düzgün bir kontrol noktası fonksiyonuna yetecek TP53 sağlamak için bir ön-önlemin ölçüsü olarak değerlendirilebilir. TP53 aktivitesi, normal hücre döngüsü esnasında G1 ve G2 CDK'ları ve hücre döngüsüne bağlı casein kinaz II tarafından C-terminal domaininin fosforilasyonu yoluyla kısıtlanır. Bundan başka, TP53 birikimi, nukleus dışına taşıma, poli-ubiquitinizasyon ve HDM2 tarafından yürütülen degradasyon ile önlenir. DNA hasarı sonucunda TP53'ün fosforilasyonu bu kısıtlamaların üstesinden gelir. Benzer şekilde, örneğin G2→M noktasında farkedilen eksik replikasyonda kontrol noktası başarısızlığı, TP53'ün N-terminalini fosforile ederek HDM2 etkileşimini inhibe eden ve inhibitör fosforilasyonun etkisini azaltan CHK1 ve CHK2 gibi checkpoint bağlı kinazları aktive eder. G1→S noktasındaki RB1-bağlı kısıtlama noktasındaki ör. onkogenik MYC veya RAS'ın neden olduğu defektler, HDM2'yi bloke eden ve böylece TP53 aktivitesini ve konsantrasyonunu arttıran p14<sup>ARF1</sup> in transkripsiyonunun artmasına yol açar<sup>1,2</sup>.

TP53 kavşağının downstream'inde çeşitli farklı yollar da mevcuttur (Şekil 9).



**Şekil 9.** TP53 ağının sadece merkezi elemanları ile şematize edilmiş hali. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

TP53 hücre döngüsü inhibitörlerini, özellikle de hücre döngüsünü G1'de bloke eden p21<sup>CIP1</sup> ve G2'de bloke eden 14-3-3 $\sigma$ 'i indükle. TP53'ün aktivasyonunun büyüklüğü tabii ki MDM2 tarafından uyarılması ile sınırlıdır. İntrinsik ve ekstrinsik yollar aracılığı ile TP53 tarafından apoptozun uyarılması, hücre döngüsünün inhibisyonu ile yarışmalı olarak uyarılmakta gibi görünmektedir. Böylece, TP53 aktivasyonunun akıbeti sadece büyüklüğüne değil, aynı zamanda yerine göre hücre döngüsünün durdurulması veya apoptoz girilmesini (Her biri diğerini engeller) belirleyen hücrenin şartlarına da bağlıdır. TP53 tarafından uyarılan TNFRSF reseptörlerinin ligandlarına maruz kalan bir hücre sıklıkla apoptoz gidebilirken; BCL2 gibi bir apoptoz inhibitörünü yüksek oranda eksprese eden bir hücre, hücre döngüsünü durdurabilir. Hücre döngüsü arestinin TP53 tarafından uyarılması sıklıkla geriye dönüşsüz olabilir ve replikatif senesense girilebilir.

Bir hücrenin TP53'e yanıtta akıbeti çeşitli diğer "kanser yollarının"



aktivitesi ile de belirlenir. Bu etkileşimlerin birçoğu bilinmektedir, fakat hepsi tam olarak anlaşılmalı değildir. ERK ve JNK MAPK yollarının artmış aktivitesi, TP53'ü aktive etme eğilimindedir. Benzer şekilde, kolon kanseri ve özellikle karaciğer kanserinde WNT yolağının artmış aktivitesi, daha uzun bir periyotta sağlam TP53 ile uyuşmamakta gibi görünmektedir. Aksine, kanserlerde PI3K ve NF $\kappa$ B yollarının aktivasyonu, TP53'ün etkisini engelleme eğilimindedir. PI3K yolağında, bu HDM2/MDM2 nin AKT tarafından aktivasyonuna ve azalmış sinyalleşmenin TP53'ün sebep olduğu yaşamsal faktörlerce kompanse edilmesi şeklindeki artmış canlılık sinyalleşmesine bağlı olabilir. TP53, IGF'lere bağlanıp onları tutan bir salgı proteini olan IGFBP3'ü güçlü bir şekilde uyarır. IGF'ler büyük oranda PI3K yolağında aktivite gördüğünden bu yolağın otonom aktivasyonu, ör. PTEN fonksiyon kaybı ile TP53'ün aktivitesinin bu bölümünü yok edecektir. Bu değişim, TP53'ün proapoptotik etkisini azaltırken, p21<sup>CIP1</sup> in AKT fosforilasyonu TP53'ün büyümenin durdurulması üzerine etkisini azaltır. Böylece PI3K yolağının aşırı aktivitesi, hücre büyümesi ve yaşaması üzerine TP53'ün etkisini kısıtlayacaktır. Buna karşılık, birçok kanserde bulunan NF $\kappa$ B yolağının aşırı aktivitesinin, TP53 tarafından uyarılan apoptozu daha selektif olarak engellemesi ümit edilmektedir. BCL-X<sub>L</sub> ve IAP'lar gibi antiapoptotik proteinlerin uyarılması, bu koruyucu etkide bir anahtar element konumunda olabilir. AKT aynı zamanda NF $\kappa$ B faktörlerini fosforile ve aktive eder.

Final olarak, aktive olmuş TP53'ün hedefleri arasında hücre metabolizma, ekstraselüler matriksin şekillenmesi ve angiogeneze dahil olan genler bulunmaktadır. TP53 aktivitesinin bu yönüyle tümör hücrelerinin kendi çevrelerinde sergilediği etkileri önlemesi beklenebilir.

TP53'ün çeşitli efektör fonksiyonları tümör fenotipinin tipik görünüşü ile ilişkilidir. Aksine, TP53 potansiyel olarak kansere yol açan çeşitli yaygın aberasyonlar sonucunda aktive olur. TP53 ağı böyle güçlü nodal bir karaktere sahiptir. Bunun sonucunda TP53 kaybı, insan kanserlerinde bu ağda en yaygın görülen değişimdir. Regülatörü olan HDM2 ve p14<sup>ARF1</sup> deki değişimler de nisbeten sık görülür. ATM ve CHK1 gibi TP53'ü aktive eden protein kinaz

aktivatörlerindeki fonksiyon kaybı kansere yatkınlığında artış görülen kalıtsal hastalıklarda bulunmuş fakat sporadik kanserlerde daha seyrek rastlanmıştır. Bunun anlamı şudur: TP53'ün kanserlerde en önemli özelliği hiperproliferasiyona yanıt verme yeteneğidir. TP53'ün downstream efektörlerindeki değişimler, bizzat TP53'ün kaybı ile aynı etkiyi göstermez. Bu değişimler ortaya çıktığında, primer olarak TP53 ile uyarılmış apoptozun efektörlerini hedefler gibi görünmektedir. Böylece, BAX mutasyonları ve APAF1'in ve TP53'ün diğer tahmin edilen apoptotik aracılarının (medyatörlerinin) promotor hipermetilasyonu bazı kanserlerde bulunmuştur. Hipermetilasyon aynı zamanda G2 arestinde TP53 tarafından uyarılan 14-3-3σ da inaktive eder, fakat bu proteinin daha başka fonksiyonları da vardır.

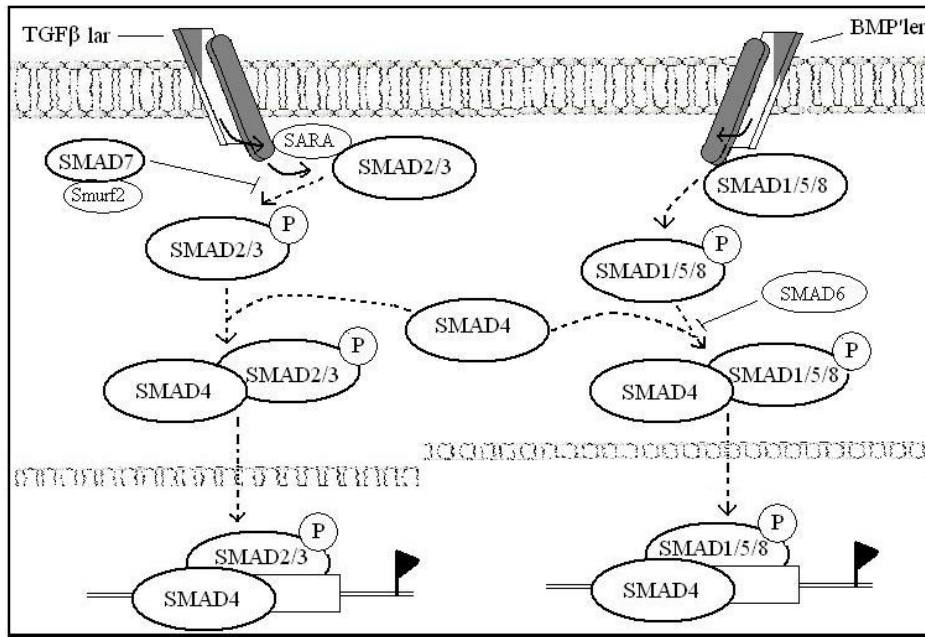
### **7- TGFβ FAKTÖRLERİ İLE SİNYALLEŞME**

TGFβ büyüme faktörleri süperailisinin çeşitli fonksiyonları olan ≈30 civarında üyesi mevcuttur. Örneğin mullerian inhibitör faktör veya kemik morfogenetik proteinleri (BMPs: Bone Morphogenetic Proteins) gibi üyeler gelişme esnasında dokuları şekillendirirler. Epitelyal hücrelerde büyüme potansiyeli olduğundan ve TGFβ sinyalleri ile ilişkili yollardaki mutasyonların birçok karsinomun gelişiminde sık görülmesi nedeniyle, kanser olgusunda TGFβ1, temel ilgi alanlarından birini oluşturmaktadır. TGFβ1, immün sistemdeki birçok hücre içinde bir inhibitör faktördür. Buna karşılık, birçok mezenkimal hücre tipinin proliferasyonunu uyarır. Bu son özellik "transforme edici büyüme faktörü" olarak tanımlanmasına yol açmıştır. Çünkü EGF benzeri TGFα ve TGFβ kültürde koopere bir halde mezenkimal hücrelerin bağlanmadan bağımsız (yapışmadan) büyümelerini uyarırlar. Ki bu özellikte transforme fenotipin göstergesidir.

Karsinom dokularında, tümör hücrelerinde yalnız TGFβ ya yanıtın kaybı değil, fakat aynı zamanda immün ve mezenkimal hücrelere etkisi de önemlidir. Karsinom hücrelerince üretilen veya ekstraselüler matrikse bağlı preprotein formlarından serbest bırakılan TGFβ kansere karşı immün yanıtı inhibe ederken stromal hücrelerin proliferasyonunu ve karsinomun

büyüyebilmesi için ekstraselüler matrikse yayılmasını uyarır. Bu ilişki, neden TGF $\beta$  ya defektif yanıtın sıklıkla kanser gelişiminde invazyon ve metastazın habercisi olduğunu açıklayabilir. Özellikle karsinom hücreleri TGF $\beta$ 'nın büyüme inhibe edici etkisine yanıt vermezken diğer hücreler için TGF $\beta$  salgılayıp aktive etme yetenekleri örneğin prostat kanserlerinde metastazın artması ve tercihi çevre oluşturmalarına yardım eder.

TGF $\beta$  sinyalleşmesi için temel intraselüler yolak, basit ve açıktır (Şekil 10).



**Şekil 10.** TGF $\beta$  ve BMP'ler ile hücre içi sinyalleşme. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

Büyüme faktörü, tipl reseptör ile trimerik bir kompleks oluşturmak için hücre membranında tipl reseptör ile asosiyel olur. Tipl reseptör, fosforile olan ve kendi kendini aktive eden bir serin/threonin kinazdır. Hücre membranının iç yüzünde SARA proteinleri tarafından sunulan SMAD2 ve SMAD3 proteinlerini

fosforile eder. Fosforile SMAD'lar serbest hale geçer ve SMAD4 ile heterodimerize olur. Birlikte, birçok geni aktive veya inaktive ettikleri nukleusa transport edilirler. SMAD faktörleri potansiyel transaktivatörler değildir ve aktiviteleri büyük oranda kendi civarlarındaki diğer transkripsiyon faktörleri ile bağlanmalarına bağlıdır. Bu durum neden aktivitelerinin içeriğe bağlı ve çeşitli hücre tipleri içinde neden farklı olduğunu kısmen açıklayabilir. Yolağın aktivasyonu inhibitör SMAD'lar SMAD6 ve SMAD7 tarafından engellenir. SMAD2 ve SMAD3, R-SMAD'lar olarak kategorize edilirler, burada 'R' reseptörle regüle olan anlamındadır. Diğer R-SMAD lar, SMAD1.5 ve 8, BMP ler için farklı reseptörlerce aynı fonksiyon tarzı ile aktive edilirler. Yolak boyunca sinyalleşme, R-SMAD'ları fosforile eden ERK ve JNK kinazlarca down regüle edilebilir. Tam tersine, MAPK yolakları TGF $\beta$  reseptör ailesinin bazı üyelerince de aktive edilir. TGF $\beta$  sinyalleşmesi ve standart WNT yolağı arasında daha başka cross-talk iletişimleri de gerçekleşir. Genelde, bu yolaklar birbirlerini inhibe etme eğilimindedirler.

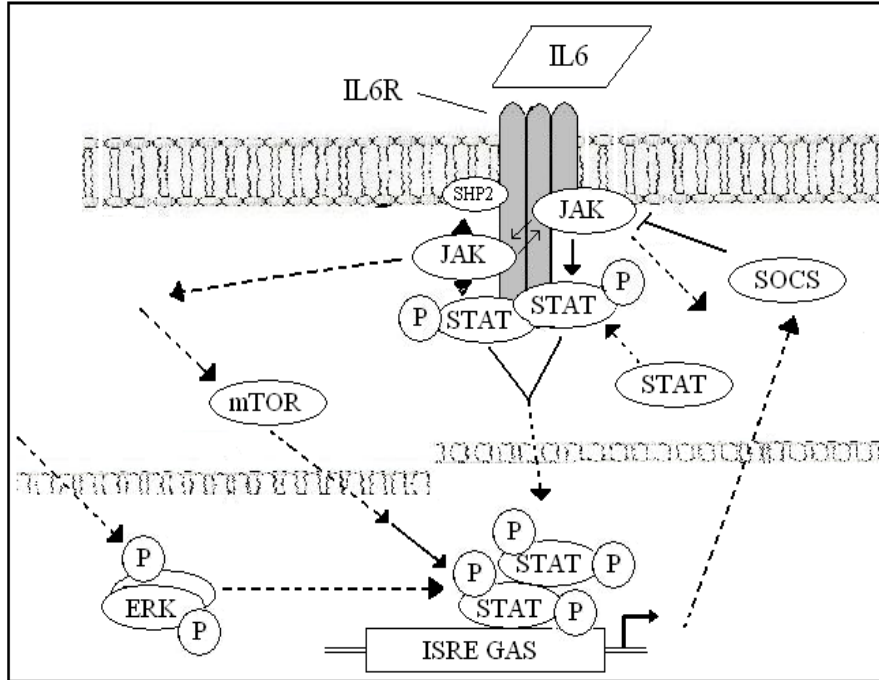
Karsinomlarda TGF $\beta$ 'ya cevap verme yeteneğinin kaybı, yolağın çeşitli basamaklarında değişimlere yol açar. Bunlar arasında, reseptör mutasyonları, R-SMAD veya Co-SMAD'ların delesyon ile kaybı veya mutasyonla inaktivasyonlarını sayabiliriz. Bu tarz değişimler örneğin invaziv kolon karsinomlarında veya metastatik prostat karsinomlarında gözlenmektedir.

#### **8- STAT FAKTÖRLERİ İLE SINYALLEŞME**

İnsan kanserlerinde STAT faktörleri ile sinyalleşmenin de oldukça farklı sonuçları vardır. SMAD faktörleri ile sinyalleşmede olduğu gibi bu sinyalleşme kısmen değişkene ve farklı hücre tiplerindeki >7 farklı STAT faktörünün içerik ve durum bağlı etkilerine bağlıdır. Hematopoetik sistem hücrelerinde, STAT sinyal yolu, interlökinler ve diğer hücre tiplerine spesifik büyüme faktörleri ve sitokinleri ör. GM-CSF ve eritropoetine cevap olarak hücre proliferasyonunu uyarır. STAT sinyalleşmesi, epitelyal hücrelerde de SRC veya aktive ABL kinaz gibi kinazlarca iletilen adhezyon sinyalleri ve EGF, sitokin IL-6 gibi büyüme faktörlerinin aktivitesi ile uyarılan çeşitli yolaklardan biri olarak aktive

edilir. STAT faktörleri aynı zamanda interferonun etkisine de aracılık eder. Böylece hematolojik kanserlerde STAT sinyalleşmesinin yapısal aktivasyonu ör. Kronik myelöjenik lösemide yaygın bir bulgudur. Burada STAT5 major faktördür. Bazı karsinomlarda da Ör. Baş ve boyun squamöz hücreli karsinomlarında bu kanser tipinde çok yaygın olan EGFR aşırı ekspresyonu sonucunda STAT yolağının aktive olduğu bulunmuştur. Bu durumda ailenin en ilişkili üyesi STAT3 olabilir. Diğer karsinomlarda, STAT sinyalleşmesi, interferonlara hücresel yanıtın inhibisyonu ile birlikte aktif olarak baskılanmış olarak görülmektedir. Downregülasyon temelde STAT1 ile ilişkilidir.

STAT sinyalleşme yolağı, SMAD yolağına benzer şekilde basit ve açıktır (Şekil 11).



**Şekil 11.** JAK/STAT yolağının IL6 tarafından aktivasyonu. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

R-SMAD lar gibi STAT lar hücre membranında fosforile edilir ve transkripsiyonel aktivatör olarak aktivite görmek üzere nukleusa geçer. Ligandına bağlanınca birçok sitokin reseptör, ör. IL-6 reseptör gp130, reseptör proteini tirozinden fosforile eden janus kinazları (JAK1 veya JAK2) güçlendirmeye başlar. Bu fosfotirozinler çeşitli STAT proteinlerinin (predominant olarak STAT1, STAT3 veya STAT5) SH2 domainleri için bağlanma bölgesi olarak hizmet ederler. Reseptör/JAK kompleksine bağlandığında STAT faktörleri de fosforilasyon ile aktive olurlar. Fosforile faktörler homo- veya heterodimerize olarak nukleusa geçer ve gen promotorunda spesifik tanıma bölgesine bağlanır. STAT faktörleri için tipik bir bağlanma dizisi, GAS element aracılı  $\gamma$ -interferon (IFN $\gamma$ ) yanıtlarıdır; çok az farklı ISRE elementleri IFN $\alpha/\beta$  ya yanıt verir. SMAD faktörleri gibi STAT proteinleri güçlü transkripsiyonel aktivatörler değildir ve genellikle etkili bir transkripsiyonel aktivasyon için komşu dizilere bağlanan diğer faktörlerle birleşirler. STAT hedef genleri arasında JAK inhibitörü olarak görev yapan ve STAT sinyallerinin sonlandırılmasına katılan SOCS faktörlerini kodlayan gen vardır. Bu terminasyon SHP protein fosfatazlar yoluyla defosforilasyon ile desteklenir. Buna ek olarak STAT faktörlerinin aktivitesi MAPK ve PI3K yollarındaki protein kinazlarca cross-regüle edilir<sup>1,2</sup>.

Hematolojik kanserlerde STAT yollarının yapısal aktivasyonu çeşitli mekanizmalarla gerçekleştirilir. Bazı lösemilerde STAT faktörleri füzyon proteinlerin bir parçasıdır, diğerlerinde ise BCR-ABL proteininin oluşumu gibi diğer füzyonlar tarafından indirek olarak aktive edilirler. SOCS genlerinin ör. Promotor hipermetilasyonu ile inaktivasyonu bu değişiklikleri arttırabilir. Bundan dolayı bu değişim aynı zamanda reseptör tirozin kinaz aktivasyonundan kaynaklanan yapısal STAT aktivasyonlu karsinomlarda da bulunur. Buna karşılık, bazı diğer karsinomlarda STAT faktörlerinin özellikle STAT1 in ekspresyonu downregüle edilir, belki de hücre interferonların büyüme inhibe edici etkisine yanıtız hale geldikleri içindir.

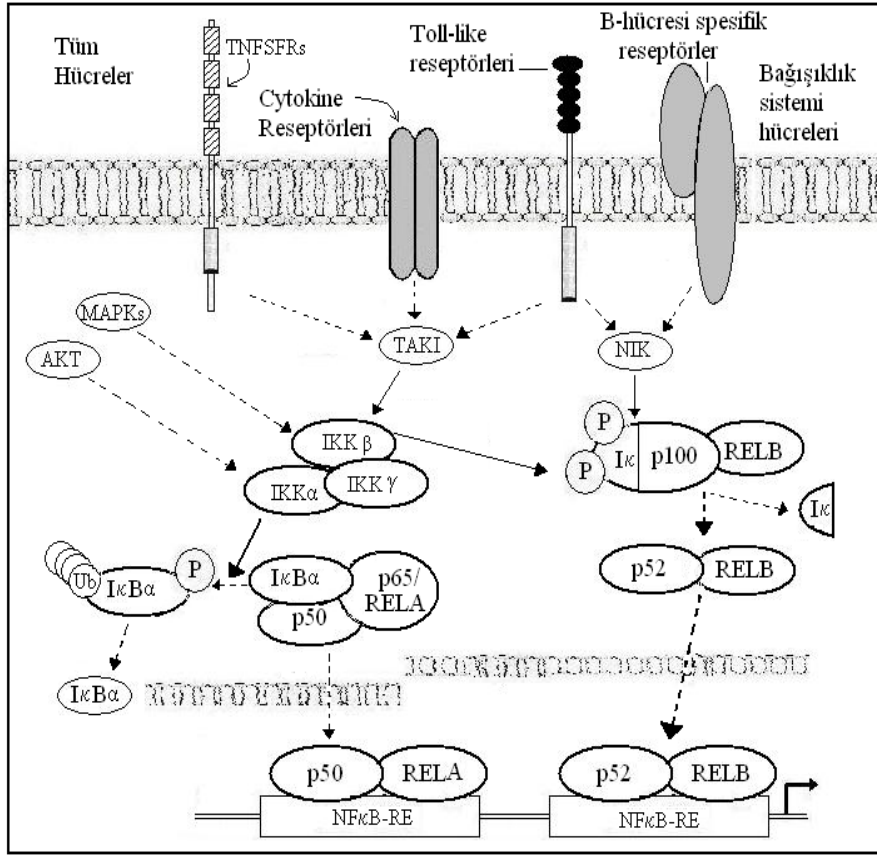
### 9- NF<sub>κ</sub>B YOLAĞI

STAT yolağına benzer şekilde NF<sub>κ</sub>B yolağının aktivasyonu tartışmasız bir şekilde kanseri uyarmaz, ve STAT yolağı gibi hematopoetik hücrelerde diğer hücre tipleri ile kıyaslandığında farklı fonksiyonlara sahiptir. NF<sub>κ</sub>B yolağının primer fonksiyonu, lenfoid hücrelerin, inflamasyonun ve apoptozun regülasyonudur. Bununla birlikte bazı hücre tiplerinde, spesifik olarak sitokinlere yanıtta hücre proliferasyonunun regülasyonuna dahil olur.

NF<sub>κ</sub>B, B hücrelerinde Ig kappa zincirinin ekspresyonunu regüle eden nukleer faktörü tanımlamaktadır. NF<sub>κ</sub>B faktörleri biri daha büyük olan REL alt ünitesi, diğeri daha küçük bir p50 veya p52 alt ünitelerinden oluşan bir heterodimerik transkripsiyon faktörüdür. REL alt ünitesi RELA, RELB ve c-REL den oluşur. RELA bunların en çok ve yaygın bulunanı olduğundan yaygın olarak p65 olarak bilinir. Aynı zamanda en güçlü transkripsiyon faktörüdür. RELA ve c-REL, daha büyük bir p105 öncülünden köken alan p50 ile heterodimerler oluştururlar. Bu heterodimerler normalde bir inhibitör protein olan I<sub>κ</sub>B tarafından sitoplazmada tutulurlar (Şekil 12).

RELB, p52 alt ünitesinin öncülü olan p100 ile assosiyel olur. Bu durumda, RELB-prep52 kompleksi de sitoplazmada tutulur.

Transkripsiyonun aktivasyonu, singlet oksijen gibi reaktif oksijen türleri ve diğer hücrel stres tipleri ve daha kontrollü bir formda sitokin reseptörleri gibi farklı sinyallerle sağlanabilir. Lenfoid hücrelerde bunlar interlökin reseptörleri veya aktivasyon koreseptörleri olabilirler. Makrofajlarda, sitokin reseptörleri veya toll-like-reseptörler ile aktivite gösteren bakteriyel lipopolisakkaritler olabilirler. Birçok hücre tipinde NF<sub>κ</sub>B faktörlerinin aktivasyonu, tipik olarak apoptozu regüle eden TNFRSF ailesi reseptörlerince sağlanır ve bu aktivasyon yanıtın etkinliğine aracılık eder. Epitelyal hücrelerde sitokin aktivitesi, STAT faktörlerine ilave olarak NF<sub>κ</sub>B faktörlerini ve MAPK yolağı ile etkileşimi içerir.



**Şekil 12.** NF $\kappa$ B yolları özet olarak şematize edilmiştir. Şema, sitoplazmik NF $\kappa$ B proteinlerinin nükleer transkripsiyonal aktivatörlere doğru aktivasyonlarını göstermektedir. Çeşitli sinyallerle aktivasyonlarına yol açan olaylar burada gösterilenden çok daha karmaşıktır. Hücre tipleri arasında çeşitlilik gösterirler. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

İki farklı tipte sitozolik kompleks, iki benzer mekanizma ile aktive edilir. IKK protein kinazı içeren bir multiprotein kompleksi, inhibitör alt üniteyi fosforile eder, P65/p50 kompleksi anında nükleusa transporta izin verir. RELB/p52 kompleksinin, komplekste bulunan NIK protein kinaz tarafından ilave fosforilasyonu inhibitör domain p52 pre-proteininin proteolitik



uzaklaştırılmasını başlatır ve böylece kompleks nukleusa girebilir.

NF $\kappa$ B faktörlerinin hedef genleri dört grupta incelenebilir.

STAT ve TGF $\beta$  yanıtlarında olduğu gibi, I $\kappa$ B proteinleri durumunda feedback inhibitörleri uyarılmaktadır.

Sınırlı sayıda bir grup hücre proliferasyonu regülatörü uyarılır, bunlardan göze çarpanları MYC ve Cyclin D1 dir.

Apoptoza aracılık eden daha büyük bir protein seti uyarılır. BCL-X<sub>L</sub> ve FLIP gibi çoğu anti-apoptotik iken FAS reseptörü ve ligandları (CD95 ve CD95L) gibi diğerleri apoptotiktir.

İmmün hücrelerde ve hatta immün fonksiyon ve özellikle inflamasyon ile ilişkili non-immün hücrelerde daha geniş bir protein seti uyarılır.

Bunlar hücre-hücre iletişim proteinlerini, ör.adhezyon moleküllerini, kemokinleri ve sitokinleri, ve aynı zamanda spesifik ve nonspesifik immün yanıtları içeren faktörleri de kapsarlar. Spesifik olarak NF $\kappa$ B faktörleri, immün savunma ve inflamasyonda oksidatif radikallerin parçalanmasına katılan uyarılabilir nitrojen oksid sentaz (iNOS) ve siklooksijenaz 2 (COX2) nin uyarılmasına aracılık eden temel medyatörlerdir.

NF $\kappa$ B yolağının bu son fonksiyonu, karsinogenez esnasında muhtemelen en problemlisi olanıdır. Yolağın aktivitesi, inflamasyon ve özellikle de kronik inflamasyon için bir gerekliliktir. Yani yolağın aşırı aktivitesi kronik inflamasyon ile ilişkili kanser gelişimi için elzemdir ve bazı durumlarda nisbeten özgün olarak midedeki helicobacter pylori gibi bir patojen ajan tarafından sağlanır. Sonuç olarak yolağın aktivasyonunu bloke eden ajanlar, enflamasyonu azaltıp bu tür kanserlerden koruyabilirler. Asetilsalisilik asit (aspirin) gibi yaygın olarak kullanılan bazı non-steroidal anti-enflamatuar ilaçlar (NSAIDs), IKK yı inhibe ederler.

Kanser hücrelerinde yolak, yapısal olarak aktive edilirse NF $\kappa$ B faktörlerinin antiapoptotik etkilerinin de problemlisi olacağı açıktır. Normalde bu antiapoptotik etki, immün savunma esnasında lenfoid hücreleri seçme ve korumaya yönelik gibi görünmektedir. Yani çeşitli insan lenfomalarında REL geninin translokasyon ve amplifikasyonları bu mekanizma ile çalışabilir, fakat

bu hücrelerde yolak aynı zamanda proliferasyonu uyarmaya da eğilimlidir. REL geninin retroviral ortoloğu olan v-rel, lösemi ve lenfomalara sebep olan potansiyel bir onkogendir.

Karsinomlarda NF $\kappa$ B'nin aktivasyonunun etkisi tam olarak anlaşılmamıştır. Apoptoza etkisi amaca uygun olabilir. İmmün sisteme saldırmak üzere bu faktörler, FAS ligandını uyarmaya karsinom hücrelerince yönlendirilmiş olabilirler. Bununla birlikte NF $\kappa$ B, özellikle metastazda proliferasyonu etkileyebilir. Bazı kanserler, kemokinler ve sitokinleri içeren lokal büyüme faktörlerine duyarlı hale gelerek belli organlarda metastaza yol açabilirler. Örneğin, meme ve prostat kanserleri, kısmen NF $\kappa$ B aracılığı ile çalışan büyüme faktörlerine duyarlılık gibi osteoblast veya osteoklastlara özgü bazı özellikleri taklit ederek kemiğe metastazı tercih ederler. Bu durum tabii ki çok daha kompleks etkileşimlerin sadece bir bölümüdür. Final olarak bu yolak, bir dominant insan kanser sendromuna karışmıştır. Nadir bir hastalık olan cylindromatosis'e, kromozom 16q da lokalize CYLD genindeki kalıtsal mutasyonlar neden olmaktadır. Bu gen, klasik bir tümör süpresör gen gibi davranmaktadır. CYLD geninin kodladığı protein, IKK protein kompleksinin bir bileşenidir. NF $\kappa$ B yolağının aktivasyonunu TNF gibi sitokinler aracılığı ile TNF reseptör kompleksinin bir regülatör alt ünitesini de-ubiquitine ederek regüle ediyor gibi görünmektedir. NF $\kappa$ B yolağının inhibitörleri ile hastalığı tedavi etme ve tümörü önleme çalışmaları devam etmektedir.

## **10-KANSER YOLAKLARI OLARAK GELİŞİMSEL REGÜLATÖR SİSTEMLER**

Yetişkin dokularında olduğu gibi, MAPK ve diğer yolaklar aracılığı ile sinyalleşme ontogenetik gelişim esnasındaki hücre proliferasyonunun regülasyonu, hücre farklılaşması ve apoptosise dahil olur. Bununla birlikte bir embriyonun gelişimi, ne bir homeostatik replasman ne de basit bir ekspansiyondur, fakat bir hücre popülasyonunun ve bireysel hücrelerin gelişimsel akıbeti hakkında birçok kararlar içerir. Epiblast içindeki pluripotent hücrelerden bazıları primordial germ hücrelerine gelişirken diğerleri daha başka

etkileşimlerle doku ve organları oluşturmak üzere germ tabakalarını oluştururlar. Bu da yine hücre akıbeti kararları ve hücre proliferasyonu ile işlenmiş öncülerin çok veya az olmaları ve farklılaşmalarının terminal farklılaşma mı yoksa geçici sessiz mi olduğu arasındaki mükemmel koordinasyonu gerektirir.

Birçok gelişen dokuda, hücreler kök hücreleri veya öncü popülasyonları oluşturmak üzere bir kenara dizilerek spesifik doku fonksiyonlarını yerine getiren farklılaşmış hücrelere veya en azından doku hasarı sonrasında farklılaşmış hücre kompartmanlarını yenileyerek sürekli bir destek sağlarlar. Bölümün önceki kısımlarında tartışılan birçok büyüme faktörü ve sinyal yolağı bu süreçlerde yer almaktadır. Fakat birçok ilave yolak, spesifik olarak erişkin dokularda hücre akıbeti kararlarında ve doku kök hücrelerinin düzeni ve regülasyonunda fonksiyon görürler. Bunların üçü insan kanserlerinde ünlenmiştir. Bunlar WNT (Şekil 13), Hedgehog/SHH (Şekil 14) ve NOTCH (Şekil 15) yolaklarıdır<sup>1,2</sup>.

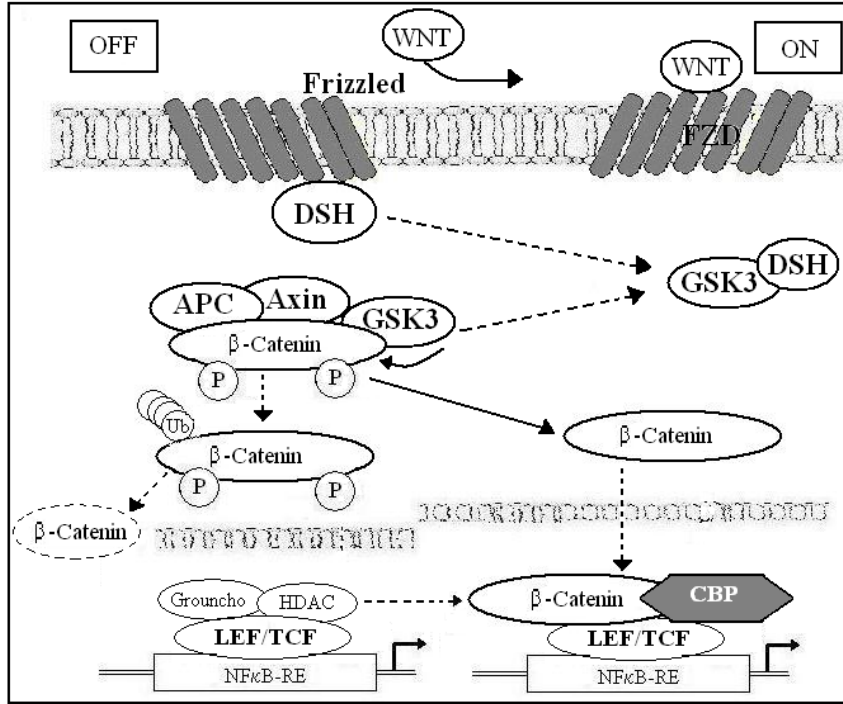
İnsanlarda, WNT büyüme faktörü ailesine ait 20 den fazla faktör mevcuttur. Birbirleri ile >%30 un üzerinde homolojiye sahip ≈40kDa luk proteinlerdir. Proteinler glikozile edildikten ve bir lipofilik kısma kovalent bağlandıktan sonra salgılanırlar. Buna göre, faktörler ekstraselüler matrikse iyi bağlanırlar ve difüzyonlarını kısıtlayan hücre membranlarına yapışırlar. Böylece, parakrin veya otokrin faktör gibi davranmaları kısıtlanır. Gelişme esnasında, WNT proteinleri, birçok farklı dokunun, özellikle böbrek ve barsağın tubular ve duktular epitelyal yapılarının ekspansiyon ve morfogenezini yürütürler. Tabiki WNT faktörleri ve yolaklar diğerleriyle ör. Ekstremitelerin gelişiminde Hedgehog bağlı yolaklar ile etkileşime girerler. Bireysel WNT faktörleri ergin dokularının homeostazına dahil olmaya devam ederler ve spesifik olarak ör. Gastrointestinal sistemde kök hücre kompartmanlarını kontrol ediyor görünmektedirler<sup>3,4,5</sup>.

WNT faktörleri normalde hücre yüzeyinde Frizzled reseptör proteinlerince (FZD) tanınırlar. Bunların, farklı WNT faktörlerine yanıt veren çok çeşitleri vardır. WNT lerin lipid kısmını tanıyan gibi görünen ve salgılanan Frizzled

ilişkili proteinler (SFRP) ile engellenen spesifik LRP proteinlerince (LRP5 ve LRP6) desteklenirler. FZD reseptörleri, sadece bağlandıkları WNT ye göre değil aynı zamanda uyardıkları intracelüler yolağa göre de farklıdır. En azından üç farklı yolak bilinmekte fakat sadece biri gerçekten karakterize edilmiştir. Bu yolda nihai basamak, APC, Axin ve GSK3 $\beta$  yi içeren çeşitli proteinlerin koordineli aktivitesi ile alıkonan  $\beta$ -kateninin aktivasyonu ve birikimidir (Şekil 13).

Bu özel yolak bu nedenle WNT/  $\beta$ -katenin veya standart WNT yolağı olarak adlandırılır. Yapısal aktivasyonu, kolon kanserinin gelişimi için elzemdir. diğer kanserlerde özellikle hepatoselüler karsinomlarda da önemlidir. APC veya Axin gibi negatif regülatörlerin fonksiyon kaybı veya  $\beta$ -katenini aktive eden onkogenik mutasyonlar alternatif olarak deregülasyonuna neden olur. APC ve CTNNB1 ( $\beta$ -katenini kodlayan) bu nedenle tümör süpresör ve onkogen olarak davranırlar.

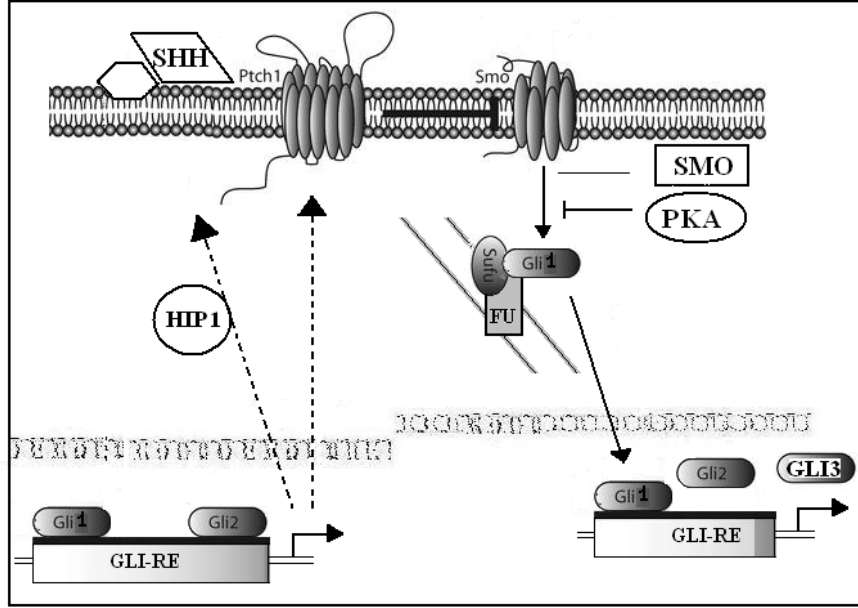
WNT/Ca<sup>2+</sup>, klasik PKC'lerin ve diğer Ca<sup>2+</sup> bağı protein kinazların aktivasyonunu gerektirir. Fonksiyonu tam olarak tanımlanmamıştır fakat hücrel farklılaşmayı standart yolağa göre çok daha fazla teşvik eder. WNT/polarite yolağı, küçük GTP-bağlayıcı protein RHO'yu içerir ve hücre iskeletinin polarizasyonu üzerine etki gösterir. Aynı zamanda JNK1 kinazın fosforilasyonuna da yol açar ve MAPK yolağı ile cross-talk yapar. Bu iki diğer yolak şimdiye kadar insan kanserlerinde az çalışılmıştır. Aynı şekilde, Çeşitli farklı insan kanseri tipinde WNT faktörlerinin, FZD reseptörlerinin ve SFRP1'in değişmiş ekspresyonları ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bununla birlikte, bir retroviral insersiyonla WNT faktör aktivasyonuna ait en azından bir örnek tanımlanmıştır.



**Şekil 13.** WNT/  $\beta$ -katenin yolu. İnaktif durum (WNT faktörü bağlı değilken) solda, aktif durum sağda gösterilmiştir. Basitleştirilmiş bu şema diğer yollarla çapraz etkileşimleri içermemektedir. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

İnsanda sadece üç Hedgehog proteininin bulunması sevindiricidir. Bunlar Sonik Hedgehog (SHH), Desert Hedgehog (DHH) ve Indian Hedgehog (IHH) dir. WNT faktörleri gibi, parakrin modda aktivite gösterirler, ve WNT' lerde olduğu gibi, difüzyonları kolesterole kovalent bağlanma gibi lipofilik bir modifikasyonla kısıtlanır. Hedgehog faktörlerinin, belki de en iyi ekstremite gelişimindeki rolleri çalışılmıştır, fakat beyin ve prostat gibi diğer birçok organın gelişimi içinde elzemdirler. WNT'ler gibi, yetişkin insanda doku homeostazına katılırlar, ve gerçekte kök hücre popülasyonlarının koruma ve onarımında da yer alırlar. Yetişkin dokularda en önemli faktör SHH'tir.

Hedgehog faktörleri, SMO1 gibi smoothed reseptörlere bağlanırlar ve son olarak GLI transkripsiyonal aktivatörlerin aktivasyonuna yol açarak kendi intraselüler sinyalleşme yollarını başlatırlar. SMO1'in aktivasyonu PTCH1 tarafından engellenir (Şekil 14).



**Şekil 14.** Sonik Hedgehog (SHH) yolağı. SHH'nin PTCH1 membran reseptörüne bağlanması SMO'nun inhibisyonunu azaltır. Mikrotübüllerdeki SUFU ve muhtemelen bir FU benzeri proteini içeren bir protein kompleksinden bilinmeyen bir mekanizma ile GLI1 salınır. GLI1, nukleusa geçerek GLI1 faktörleri, PTCH1 ve diğer bir feedback inhibitörü HIP1'i de içeren hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder. Yolak aynı zamanda aktif PKA tarafından da inhibe edilir. GLI1 faktörlerini içeren kaskad hücre tipleri arasında farklılık gösterir; burada keratinositlerdeki şematize edilmiştir. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

Belki de normal olarak, hücrede SHH ve WNT yolları arasındaki iletişim (cross-talk) ile ilgili toplanmış bulgular mevcuttur.

SHH sinyalleşmesinin yapısal aktivasyonu küçük hücreli akciğer kanseri ve deri bazal hücre karsinomu gibi bir öncü hücre fenotipi ile çeşitli kanserlerin

merkezinde yer alıyor gibi görünmektedir. Bu aktivasyon dönüşümlü olarak SMO1'de nokta mutasyonu, GL1 transkripsiyon faktörlerinde aşırı ekspresyon veya genellikle PTCH1 gibi bir negatif regülatör bileşenin inaktivasyonu gibi aktive edici bileşenlerdeki mutasyonlara yol açar. Yani bunlar onkogen ve tümör süpresör olarak kabul edilirler (Tablo 1).

WNT ve SHH yolları gibi, NOTCH yolağına ilk olarak *Drosophila*'da rastlanmış ve insandan ziyade model organizmalarda gelişimdeki fonksiyonu daha yoğun olarak çalışılmıştır. Şu anda bir insan kanseri yolağı olduğu kesin olarak ispatlanmış ve aynı zamanda Alzheimer hastalığında bir faktör olarak nitelendirilir. Yeni ortaya çıkan konsensusa göre NOTCH yolağında hem bozulma hem de aşırı aktivite kanser gelişimini teşvik eder. TGF $\beta$  ve STAT yolları ör. Farklı hücre tiplerinde farklı aktivite gördüğünden bu belirsizlik kanser yolları için eşi görülmemiş değildir. NOTCH sinyalleşmesinde, kararsızlığı, göze çarpan biyolojik fonksiyonundan kaynaklanan dozaj duyarlılığı ile ilişkilidir<sup>1,2,3</sup>.

WNT ve SHH yolları gibi, NOTCH yolağı da kök ve öncü hücre katmanlarını kontrol eder. Karakteristik fonksiyonu kesinlikle iki yönlü hücre akıbeti kararlarının regülasyonudur. Bu, hücrenin bir doku öncülü olarak mı kalacağına veya epidermin bazal tabakasında olduğu gibi farklılaşmaya gideceğine mi kararlarını da içerir. NOTCH sinyalleşmesi aynı zamanda farklılaşmış bir intestinal hücrenin bir enterosit mi, bir sekretuar Paneth mi veya goblet hücresi mi olacağı veya lenfosit hattında T hücre veya B hücresi alt hatlarına mı geçeceği ile ilgili kararları da içerir. Sistem teorisinde, bu tür kararlara bifurkasyon denir ve bunun kontrolü, dönen bir madeni bir paranın bir tarafa yatması gibi ufak bir karışıklıkla karşıt yönlerden birine doğru gelişebilen yarıkararlı bir denge gerektirir. Bu mukayese, NOTCH sinyalleşme sistemi tarafından sağlanan fonksiyonun çeşidini tanımlar.

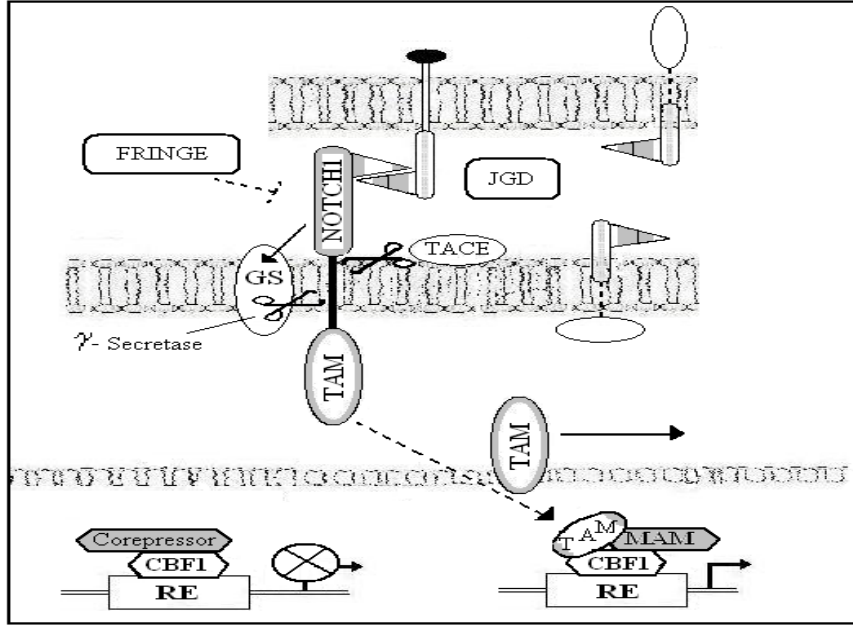
Bilinen dört farklı NOTCH reseptörü, NOTCH1-4 tür, ve hücre yüzeyinde eksprese olurlar. Komşu hücrelerin hücre yüzeyinde eksprese olan ligandlarca aktive edilirler. İki farklı türde ligand bilinmektedir. İnsanlarda, üç 'delta-like' DLL1, DLL3, ve DLL4 ve 'jagged-like' olanlar JAG1 ve JAG2

ligandlarını içerirler. Bu ligandlar neden oldukları yanıt ve büyük oranda NOTCH reseptörlerinin FRİNGE glikozilazlar tarafından modifikasyonuna hassasiyetlerine göre farklılıklar. Bu durum NOTCH reseptörlerinin glikozil zincirlerini uzatarak JAG'ın bağlanmasını önler fakat DLL proteinlerini önlemez.

NOTCH reseptör ve ligandlarının ekspresyonu herbiri kendi kendini güçlendirici ve cross-inhibitördür ve tümünü kapsar şekilde tek başına olma eğilimi vardır. Yani bir organize dokuda, farklı tiplerde hücreler reseptör veya spesifik ligandlarını eksprese ederler. öncü bir hücre popülasyonu ör bir reseptör eksprese ederken farklılaşmaya doğru giden bir hücre bir ligand eksprese edebilir. Son bahsedilen durum ör. insan epidermisinde bulunmuştur. Burada bazal hücreler NOTCH ligandlarını eksprese ederken, daha üstteki farklılaşmış tabaka NOTCH1'i eksprese eder.

NOTCH reseptörleri tek bir öncüden proteolitik kesimlerle oluşturulan heterodimerlerdir (Şekil 15).





Şekil 15. NOTCH yolağı. (Schulz WA 2007'den değiştirilerek çizilmiştir).

Buradaki proteaz, disfonksiyonu Alzheimer hastalığının sebeplerinden biri olan  $\gamma$ -sekretaz presenilin dir. NOTCH'un ekstraselüler domaini EGF benzeri tekrarlar ve kısaca LN olarak tanımlanan sisteince zengin bir domain içeren komşu hücrelerin ligandlarına bağlanırlar. İkinci alt ünite ona küçük bir ekstraselüler domain ile bağlı kalır, membran boyunca daha büyük intraselüler segmente doğru devam eder. Bu segment, protein-protein etkileşimine aracılık eden ankyrin tekrarları, bir nükleer lokalizasyon sinyali, bir transkripsiyonal transaktivasyon domaini ve regüle proteolitik degradasyondan sorumlu gibi görünen bir PEST dizisi içerir.

Ligand ile aktivasyonu takiben, intraselüler NOTCH domaini (bazen TAM olarak adlandırılır) serbest hale geçer ve nükleusa hareket ederek orada CBF1 transkripsiyon faktöründeki (CSL veya RBJ1 gibi diğer birçok isimle de bilinen) represör protein ile yer değiştirerek onu hedef genlerine doğru aktive

eder. NOTCH reseptörlerinin aktivasyonu bunlara ek olarak henüz tam olarak aydınlatılmamış CSL-bağımsız olaylara da neden olur. Farklı hücre tiplerinde NOTCH hedef genleri farklı olabilmekte gibi görünmektedir. Yani NOTCH sinyalleşmesi, nöronal öncülerde nöron-spesifik genlerin ekspresyonunu inhibe etmektedir. Keratinosit öncülerde, farklılaşma markerlarını ve p21<sup>CIP1</sup> CDK inhibitörünün sebep olduğu hücre döngüsü arrestini uyarır. NOTCH sinyalleşmesi sıklıkla WNT/ $\beta$ -katenin, SHH ve AP1 sinyalleşmelerini inhibe eder ve dönüşümlü olarak NF $\kappa$ B aktivasyonunu destekler<sup>1,2,3</sup>.

Normal epidermisteki fonksiyonundan bekleneceği gibi, NOTCH reseptörleri bu organda tümör süpresör gibi fonksiyona sahip gibi görünmektedir. NOTCH1 ve NOTCH2 nin down-regülasyonu herne kadar bu tümöre ne oranda katıldığı net değilse de bazal hücre karsinomlarında normal bir bulgudur. NOTCH sinyalleşmesi, SHH yolağını inhibe ettiği için kaybı, bu kanser tipine neden olan bu yolağın aşırı aktivitesini şiddetlendirebilir. Benzer şekilde NOTCH'un fonksiyon kaybı, muhtemelen bir otokrin mekanizma ile SHH yolağının aktivasyonunu de sergileyen küçük hücreli akciğer kanserlerinin oluşumu için bir ön koşul olabilir. Bu durumda NOTCH aktivitesi, öncül hücrelerin nöroendokrine adapte olmasını, bu kanserlerde sergilenen kök hücresi benzeri fenotipi önlüyor gibi görünmektedir.

Diğer kanserlerde, NOTCH proteinleri şüphesiz bir şekilde onkogen gibi fonksiyon görmektedirler. T-hücresi akut lösemisinin bir tipi (T-ALL), T hücresi  $\beta$ enhancer reseptörünün etkisi altında NOTCH1'in stoplazmik domaininin aşırı ekspresyonuna yol açan 7 ve 9. kromozomlar arasındaki bir translokasyonla t (7;9)(q34;q34.3) karakterizedir. Yapısal olarak aktif NOTCH sinyalleşmesi, büyük çapta lenfosit öncüsünün daha başka mutasyonlarla malignant hale gelen bir T- hücrelerine akıbetini idare ediyod gibi görünmektedir. Benzer şekilde NOTCH'un aşırı aktivitesi mesothelioma'daki SV40 T-antijeni ve genital kanserlerdeki HPV E6 ve E7 gibi viral onkoproteinlerle koopere oluyor gibi görünmektedir. Bu noktada, NOTCH sinyalleşmesinin hücre döngüsü üzerine inhibitör etkisi, öncül hücrelerinin bakım onarım fonksiyonu aktif kalan ve tümör büyümesine katılan viral

onkoproteinler tarafından ortadan kaldırılmaktadır<sup>1,2,3</sup>.

### **Kaynaklar**

1. WA Schulz. Molecular Biology of Human Cancers. The Netherlands: Springer 2007.
2. Weber GF. Molecular Mechanisms of Cancer. The Netherlands: Springer 2007.
3. Krauss G. Biochemistry of signal transduction and regulation 3<sup>rd</sup> ed. Wiley-VCH 2003.
4. Polakis P. Wnt signaling and cancer. Genes Devel. 2000;14:1837-1851.
5. Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signaling pathways in cancer. Nature 2001;411:349-354.

### **Yazışma Adresi:**

Doç.Dr. Ayfer PAZARBAŞI  
Çukurova Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Balcalı/ Adana

E-mail: payfer@cu.edu.tr