

HÜCRE SIKLUSU VE KANSER

Hülya CABADAK¹

ÖZET

Hücre çoğalması ve hücre siklusunun ilerlemesi büyümenin kontrolünde rolü olan genlerin ekspresyonu ile bağlantılıdır. Ökaryot hücre siklusunu M (mitoz) G₁, S ve G₂ fazlarından oluşmaktadır. Bu süreçte hücre uyarımı ve büyüme meydana gelir veya hücre G₀ fazında durmaktadır. Hücre siklusunda G₁-S geçişinde, G₂-M geçişinde ve metafaz-anafaz geçişinde kontrol noktaları bulunmaktadır. Hücre siklusunu siklin bağımlı kinazlar (cdk, katalitik altbirim) ve siklin (cyc, düzenleyici altbirim) tarafından kontrol edilmektedir. Hücre homeostazisi hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptozis (programlı hücre ölümü) ile sürdürülmektedir. Hücre siklusundaki olayları düzenleyen ve kontrol eden etkileşimler çok sayıda ve kompleksdir. Hücre siklusunun düzenlenmesindeki hatalar hücre bölünmesinin kontrolünün bozulmasına neden olur. Hücre siklusunu kontrol noktalarında değişimler kanser gelişimine neden olabilir. Kanser gelişiminde tümör baskılayıcı fonksiyon, DNA onarımı ve apoptozis kritik yollarıdır.

Anahtar kelimeler: Hücre siklusunu, siklinler, siklin bağımlı kinazlar, tümör baskılayıcı gen, kanser

Cell Cycle and Cancer

SUMMARY

Proliferation and cell cycle progression are linked to the expression of genes associated with growth control. The eucaryotic cell cycle consists of an M (mitotic) phase, a G₁ phase, the S phase and G₂ phase. Non-dividing cells exist at G₀. Cell cycle is regulated by several critical cell cycle check points. These are G₁-S check point, G₂-M check point and metaphase-anaphase check point. Cell cycle is controlled by the cyclin dependent kinases (cdk, catalytic subunit) and cyclins (cyc, regulatory subunit). Homeostasis within a cell is regulated by the balance between proliferation, growth arrest and apoptosis. Defects in cell cycle regulation inhibit controls for cell division. Alterations of cell cycle check points might result in cancer. The interactions which control and regulate the cascade of events within cell cycle are numerous and complex. Tumor suppression of growth arrest, DNA repair and apoptosis, are all critical pathways in the development of cancers.

Key words: Cell cycle, cyclin, cyclin dependent kinases, tumor suppressor gene, cancer.

Organizma/organ/doku gelişimi, hücrelerin büyüme ve çoğalmalarını içerdiği gibi hücre ölümlerini de sağlar. Hasarlı dokuların onarımı somatik hücrelerin ve destek dokunun çoğalması ile gerçekleşmektedir¹.

Hücre büyümesi, farklılaşması ve çoğalmasında rolü olan proto-onkogenlerde meydana gelen mutasyonlar tümör gelişimine, tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen mutasyonlar ise hücre siklusunun inhibisyonunu engelleyerek anormal hücre büyümesine neden olur².

Homeostasis; hücre çoğalması, büyümenin durdurulması ve apoptozis (programlı hücre ölümü) ile sürdürülmektedir². Hücre büyümesi ve ölüm arasındaki dengenin bozulması hiperplazi veya neoplaziye neden olur¹. Pozitif veya negatif uyarılar genetik lezyona yatkın hücrelerde, malign çoğalmaya neden olabilir. Malign gelişimi en aza indirmeye yardımcı mekanizmalardan birisi nekrozdur. Nekroz (kontrolsüz hücre ölümü) hücre şişmesi ve hızlı dejenerasyon olarak tanımlanır. Apoptozis, nekroza farklı olarak fizyolojik koşullarda meydana gelen ve doku homeostazisini sağlayan ölüm şeklidir. Programlı hücre ölümü apoptozisin normal hücre döngüsünde ve fizyolojik süreçlerde rolü vardır. Apoptotik hücrelerde hücre büzülmesi, kromatinin

kondanse olması, sitoplazmik tomurcuklar ve apoptotik cisimciklerin oluşumu gibi morfolojik değişimler meydana gelir³. Makrofajlar apoptotik hücre ve cisimciklerini fagosite eder. Doku zedelenmesinde ilk etmen reaktif oksijen türevleridir. Reaktif oksijen türevlerinin hedefleri plazma zarında ve diğer hücre kompartmanlarında bulunan proteinler, lipidler, karbohidratlar ve nükleik asitlerdir³.

Son yıllarda nekrozun da programlanmış olabileceği ve organizma homeostasis mekanizmalarının bir parçası olduğu yönünde görüş oluşmakla birlikte daha yaygın olarak nekroz indüklenmesi olası tedavi mekanizması olarak değerlendirilmektedir. Nekrozda ölen hücrelerden *HMGB1* (High mobility group protein B1) ve *HDGF* (hepatoma derived growth factor) gibi moleküllerin salınımının immün cevabı uyardığı veya yara onarımını aktive ettiği düşünülmektedir⁴.

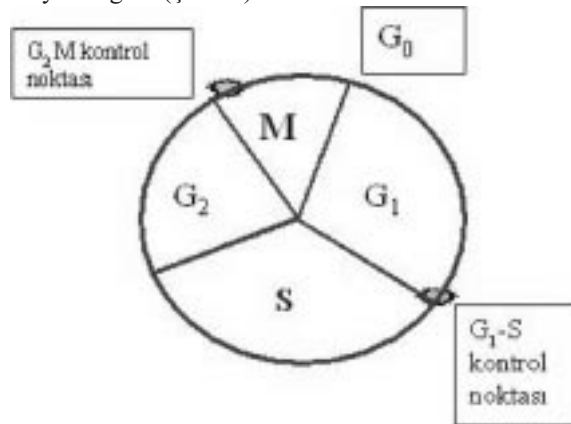
Apoptozis, normal hücre ölümünün yanısıra mutant hücre çoğalmasını önleyen önemli bir yoldur. Hücre siklusunu ve apoptozisde çok sayıda protein ikili rol oynar. Çevresel faktörlerle meydana gelen DNA hasarı hücre siklusunu kontrol mekanizmalarının bozulmasına neden olur. Pek çok kanser tipinde hücre siklusunu kontrol noktalarında mutasyonlar belirlenmiştir². Büyümenin durdurulması (growth arrest), DNA

¹Marmara Ün. Tıp Fakültesi, Biyofizik AD, İSTANBUL, TÜRKİYE

onarımı ve apoptozis'in engellenmesi kanser gelişiminde kritik yollardır.⁵ Tümör baskılayıcı genlerde mutasyonlar hasarlı hücrelerin hücre sikluslarının ilerlemesine ve tümör gelişimine neden olur.^{2,6} Genomun gardiyanı olarak da tanımlanan *p53* proteini karmaşık etkinliklere sahip ve hücre siklusunu baskılayan bir proteindir.² *p53*, hücre döngüsünü düzenleyen bir transkripsiyon faktörüdür. Birçok organizmada kanserin baskılanmasında rolü olan çok önemli bir proteindir. *p53* proteini hücre büyümesinin durdurulması, programlanmış hücre ölümü, hücre farklılaşması ve DNA tamir mekanizmasının başlatılmasında da rol alır. *p53*, mutant hücre çoğalmasına karşı genomun korunmasında önemli rol oynar.^{2,6}

1. NORMAL HÜCRELERDE HÜCRE SIKLUSU

Sürekli bölünen hücrelerde mitozdan sonra siklus G_1 -S- G_2 (interfaz) ve M (mitoz) şeklinde tekrarlanır. Bu süreçte hücre uyarımı ve büyüme meydana gelmekte veya bölünme sinyali almadıkları sürece istirahat fazı G_0 da durmaktadırlar.^{2,7} G_1 , S, G_2 fazları (Interfaz) hücre siklusunun %90'nını kapsar ve 16-24 saat sürer. Mitoz bölünme ise 1-2 saat sürmektedir. Hücre büyümesi G_1 fazında kısıtlayıcı nokta (R point) tarafından koordine edilir. Kısıtlayıcı noktada hücre duracak veya hücre siklusunu tamamlayacaktır.^{7,8} G_1 fazında hücreler kendi çevrelerini kontrol eder, sinyalleri alır ve büyümeyi indükler. Bu fazda DNA sentezi (replikasyonu) için hazırlık yapılır. RNA ve protein sentezi olur. S fazında ise DNA sentezlendikten sonra, G_2 fazında hücre büyümeye devam eder aynı zamanda RNA sentezi, protein sentezi gerçekleşir ve hücre mitozu hazırlanır. Mitoz; profaz, metafaz, anafaz ve telofazdan oluşmaktadır. Telofazda sitoplazmik bölünme tamamlanır ve aynı genetik materyalli iki yeni hücre meydana gelir (Şekil 1).^{1,5,7,8}



Şekil 1: Hücre siklusu ve kontrol noktaları: Ökaryot hücre siklusu mitoz, G_1 , S ve G_2 fazlarından oluşur. G_0 'da dinlenme aşamasında olan, bölünmeyen hücreler bulunur. G_1 fazı büyüme ve DNA sentezine hazırlık, S fazı DNA sentezi, G_2 fazı büyüme ve mitozu hazırlık, mitoz bölünme (profaz, metafazı anafaz ve telofaz) gerçekleşir.^{1,6,8,9,11}

Hücre siklusunda bir faz tamamlanmadan sonraki faza geçilirse genetik materyal tam ve doğru kopyalanmadığı için hücrede hasar meydana gelebilir. Hücre siklusunda G_1 -S geçişinde, G_2 -M geçişinde ve metafaz-anafaz geçişinde kontrol noktaları vardır. Bu kontrol noktalarında hücrenin siklusa devam edip etmeyeceği kararı verilir.⁷

Radyasyon veya toksinle muamele edilen hücrelerde DNA'da meydana gelen hasara göre hücre siklusu kontrol noktaları G_1 den S fazına veya G_2 'den mitozu geçişi engeller. DNA'da meydana gelen hasar DNA sentezini de inhibe edebilir. DNA'sı replike olmamış hücrelerde mitozu giriş kinaz komplekslerinin inaktivasyonu ile engellenir.⁷ Hücre siklusunda iki tip gen grubunun rolü vardır: Onkogenler (*Her 2*, *lneu*, *ras*, *c myc* vb) ve tümör baskılayıcı genler *p53* ve *Rb* (Retinoblastoma geni).⁹ Onkogenler, kanser gelişimini doğrudan ve dolaylı olarak etkileyen gen grubudur. Tümör baskılayıcı genler ise kanser gelişimini baskılar.¹ *p53* geni işlevini kaybederse hücre büyümesinin kontrolü ortadan kalkar ve DNA tamiri olmadan hücre siklusu kontrolsüz devam eder. Normal hücrelerde DNA hasarı olduğunda, *p53* genomik kararlılığı sağlar ve hücre siklusunu G_1 'de inhibe eder ve hücreye tamir için zaman kazandırır. Hasar tamir edilemiyorsa hücre apoptozise gider.^{7,9} Hu W ve ark. farelerde *p53* ve onun düzenleyicileri *Mdm2*'nin embriyo implantasyonunda da rolü olduğunu ileri sürmüşlerdir.¹⁰ Normal hücrelerde *Rb* hücre siklusunu G_1 fazında inhibe eder. Retinoblastoma ve osteosarkom tümör hücrelerinde *Rb* gen inaktivasyonu gösterilmiştir. Büyüme uyarısı, hücreden büyüme faktörlerinin salınımı ile başlar. Büyüme faktörleri hücre zarında özgün reseptörlere bağlanır ve sinyaller sitoplazma proteinlerine iletilir. Bu sinyaller çekirdekte transkripsiyon faktörlerinin salınımına ve hücrenin hücre siklusuna girmesini sağlar.^{4,11} Hücre siklus saati hücre siklusunun ilerleyip ilerlemeyeceğini belirler veya hücreyi ölüme yönlendirir.^{8,9}

1-1. Hücre siklus kinazları

Hücre siklusu siklinler ($cyc=cln$), siklin bağımlı kinazlar (cdk) ve siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CDI) tarafından kontrol edilir. Bu proteinlerin düzeyleri hücre siklusunun farklı fazlarında farklılıklar gösterir. Siklin bağımlı kinazlar G_1 -S- G_2 ve mitozu geçişi kontrol eder.^{2,7,9} Memeli hücrelerinde hücre siklusunun düzenlenmesinde işlevleri en iyi bilinen onbir tane siklin bağımlı kinaz ($cdk 1-11$) ve 16 siklin (siklin D (D_1 , D_2 ve D_3); siklin E (E_1 , E_2), siklin A (A_1 , A_2) ve B (B_1 , B_2)) rol oynamaktadır (Tablo 1).^{2,7,9,11,12} Siklin D, E, G_1 /S fazlarının sınırında geçici olarak sentez edilir ve hücre S fazına girdiğinde hızla yıkılır, Siklin A ve B, S/ G_2 /M faz geçişlerinde sentezlenir, siklin A_1 mayoz ve embriyogenesis de, siklin A_2 çoğalan vücut hücrelerinde bulunur. Siklin B_1 'in siklin B_2 'nin fonksiyonlarını kontrol ettiği düşünülmektedir

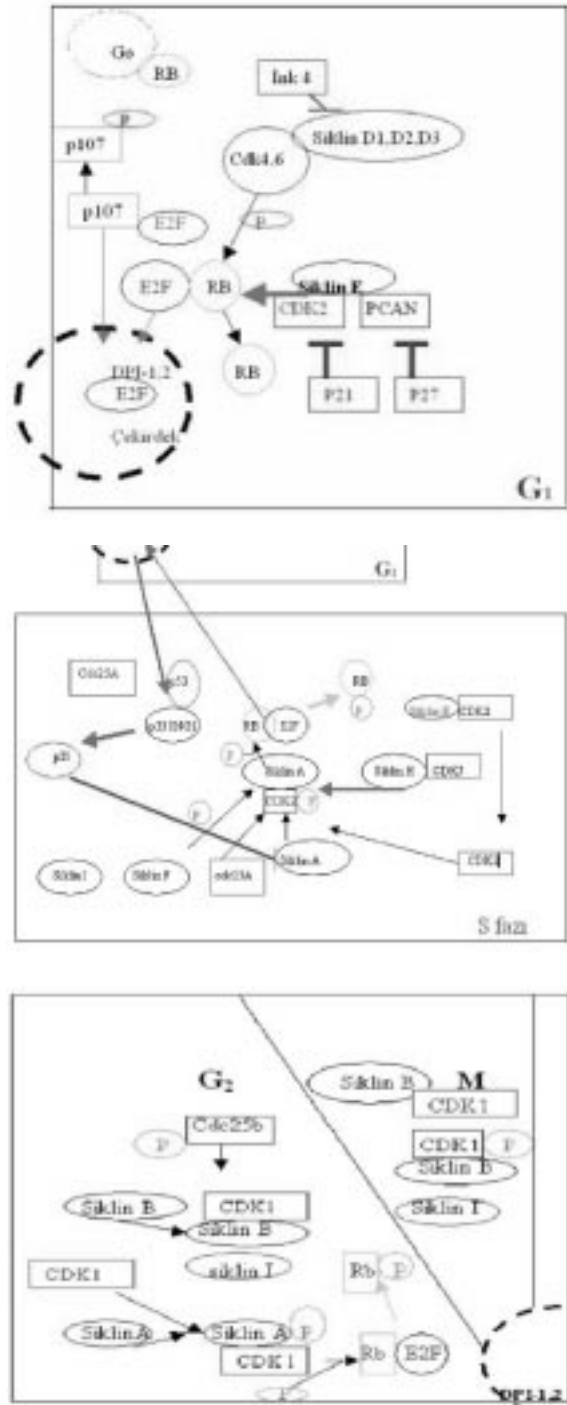
Tablo 1: Siklin bağımlı kinazlar (cdk'lar) ve siklinler (cyc'ler)

Cdk	Cyc	Hücre Siklusu
Cdk2	cycD ₁ ,cycD ₂ ,cycD ₃	G ₁
Cdk2	cycE	G ₁ → S
Cdk2	cycA	S
Cdk4	cycD ₁ ,cycD ₂ ,cycD ₃	G ₁
Cdk6	cycD ₁ ,cycD ₂ ,cycD ₃	G ₁
Cdk6	cycD ₁ ,cycD ₂ ,cycD ₃	G ₁
Cdk1 (veya cdc2)	cycA,cycE	G ₁ → M

¹². Cdk'lar protein fosforilasyonu yapan enzimlerdir. Cdk aktivitesi DNA sarmalının açılması içinde gereklidir. Replikasyon öncesi kompleks'in (PRC: Prereplicative kompleks) birkaç bileşeni fosforile olur. Yeni replikasyon orijinleri mitozun sonunda cdk aktivitesi düşene kadar yeni PRC kompleksleri oluşturamaz. Bundan dolayı her hücre siklusunda DNA bir kez replike olur^{13,14}.

Cdk'lar siklin'e bağlandığında aktifleşerek aktif siklin-cdk komplekslerini oluştururlar. Siklinler bu komplekslerin düzenleyici alt birimleri, cdk'lar ise katalitik alt birimlerdir¹⁵. Cdk, siklin (yapısal proteini) ve kinaz (enzim)inden oluşmaktadır⁹. Herbir cdk katalitik altbirimi farklı düzenleyici altbirimle bir araya gelebilir. Hücre siklusu boyunca kinaz komplekslerinin aktivite düzeyi değişir. Bu nedenle hücreler DNA'larını bir kez replike eder ve kromozomların yavru hücrelere uygun dağılımı sağlanır. Siklin-siklin bağımlı kinaz komplekslerinin (cyc-cdk) düzenlenmesi, cyc altbiriminin hücredeki konsantrasyo-nuna, fosforillenme durumuna ve inhibitör moleküllere bağlıdır. Siklinler hücre siklusunun farklı fazlarında bir taraftan sentezlenirken diğer taraftanda yıkılırlar. Memelilerde Cdk 2, Cdk 4 ve Cdk1(cdc 2)'in, siklin D, E, A ve B ile birlikte ekspresyonu olmaktadır^{2,9}. Siklin E ekspresyonu E2F transkripsiyon faktörlerine bağlıdır^{16,17}. Herbir özgün olarak belirli bir fazda en yüksek değere ulaşır, sonraki faza girerken hızla yıkılır. Siklinlerin düzeyleri transkripsiyon düzeyinde düzenlenir. Yıkımları ise 'ubiquitin' yoluyla sağlanır Aktif cyc-cdk komplekslerinde cdk altbirimi Thr 161 amino asidinden fosforillenmiştir. Bu fosforilasyon cdk'yı aktive eden kompleks (cak)'ın aktivitesi ile meydana gelir¹⁸. Bir kez aktive olan cyc-cdk kompleksi, DNA replikasyonu ve mitozdaki birçok işlemin kontrolünde rolü olan proteinleri fosforiller. Protein kinazlarla cyc-cdk altbirimlerinin fosforilasyonu ile kinaz kompleksi inaktive olur^{7,9,11}. Cdk'ların aktiviteleri sadece siklinlerle düzenlenmez ayrıca fosforilasyon ve defosforilasyona yol açan başka yollarla da düzenlenir (Şekil 2).

Siklin bağımlı kinaz inhibitörleri (CKI): Hücre siklus inhibitör proteinleri (CKI) cdk aktivitesini kontrol eder. Bu proteinler cyc-cdk kompleksi oluşumunu ve DNA replikasyonunu inhibe eder. CKI'lar hücre siklusunu frenlediklerinden tümör baskılayıcı genlere de adaydır. Etkiledikleri cdk ve inhibisyon mekanizmalarına göre iki farklı CKI ailesi



Şekil 2: Hücre siklusunda siklinler ve etkileşime girdikleri proteinler: Siklin bağımlı kinazlar ve siklinler hücre döngüsünde geçişleri tetikler. G₁ fazı başlangıcında siklin D seviyesi artar ve hücre siklusunun geri kalan kısmında sabit kalır. Siklin E geç G₁ ve S fazında, Siklin A S fazının başlangıcından G₂ fazı sonuna kadar ve Siklin B G₂-M fazında bulunmaktadır.

- G₁ fazındaki siklinler ve etkileşime girdikleri proteinler
- S fazındaki siklinler ve etkileşime girdikleri proteinler
- G₂ fazındaki siklinler ve etkileşime girdikleri proteinler

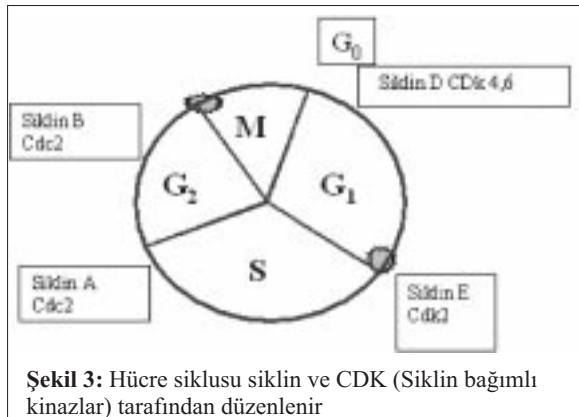
vardır. Bunlardan ink 4 ailesinde *p15*, *p16*, *p18*, *p19'* G_1 fazındaki *cdk4* ve *cdk6*'yı bağlayarak *cyc*-*cdk* kompleksi oluşumunu inhibe eder (Şekil 2a). *Cip/Kip* ailesinde ise *p21*, *p27*, *p57* bulunmaktadır. *Cip/Kip* ailesi *cyc*-*cdk* kompleksini inhibe etmektedir (Şekil 2b)^{2,7,9,11,12}. G_2 fazında siklin B *cdk1(cdc-2)*'in tam aktivasyonunu sağlayarak mitoz girişini tetiklemektedir (Şekil 2c)^{9,11,12}.

Genellikle, farklı kanser hücrelerinde hücre siklusunun G_1 -S fazını kontrol eden proteinlerin inaktif olduğu, G_2 -M fazlarını kontrol eden proteinlerde ise değişimin daha az olduğu belirtilmektedir^{1,2,19}.

1-2. Normal hücrelerde G_1 -S geçişi

Büyüme uyarıcı sinyaller G_1 fazı başlangıcında siklin D düzeyini sonraki evrede ise siklin E artışına neden olur (Şekil 3)^{2,9,11,12,20}. Kısıtlayıcı noktada (R point) büyüme inhibitör faktör (*Rb*, Retinoblastoma) hücrenin S fazına girip girmeyeceğini belirleyen anahtar gibi rol oynar^{7,4,8,9,11,21}. Kısıtlayıcı nokta geçilirse hücre DNA sentezinin olduğu S fazına girer. DNA sentezi sırasında iplikçiklerin birbirinden ayrılması ile DNA hasara çok duyarlı hale gelir ve bu nedenle S fazı hızlı geçilir⁴. Hücre siklusunun ilerlemesi *Rb* proteininin fosforillenmesi ile belirlenmektedir²². Az fosforillenmiş (Hipofosforile) *Rb* E2F transkripsiyon faktörünü bağlayarak inaktifleştirir^{11,23,24}. E2F'nin inaktifleşmesi sonucu hücre S fazına ilerleyemediğinden siklus durur. İstirahat halindeki (G_0 fazında) hücre bölünme sinyali aldığında hipofosforile *Rb* G_1 fazının sonuna doğru *cyc*'nin *cdk* ile birleşmesi ile *cyc*-*cdk* kompleksini oluşturur ve bu kompleks *Rb* proteinini fosforiller^{7,11,24}. Fosforillenen *Rb* proteininden E2F salınır, E2F'nin siklus ilerletici etkisi ile S fazına giriş için gerekli genlerin transkripsiyonu aktive olur ve hücre S fazına girer^{6,9,11,12,18,19,24-26}.

Hücre siklusunun S fazına geçişini G_1 fazında aktive olan siklinler sağlar. G_0 fazında bu siklinlerin çoğunun ekspresyonu olmaz. G_1 *cyc*-*cdk* kompleksleri transkripsiyon faktörle- rini aktive etmektedir.



Şekil 3: Hücre siklusu siklin ve CDK (Siklin bağımlı kinazlar) tarafından düzenlenir

Büyüme faktörleri, otokrin uyarım, lektinlerle mitojenik uyarım veya Ras yolağı gibi hücre içi sinyal yollarında mutasyon, hücrelerin tekrar G_1 fazından siklusa girmelerini uyarabilir^{9,27}.

İstirahat halindeki hücrelerde, başlangıçta mRNA'sı stabil olmayan siklin D az miktarda bulunur. G_0 'da büyüme faktörleri ile uyarım, siklin D sentezini ardından siklin E'nin birikimini uyarır.²⁰ Büyüme faktörleri olmadığında siklin D düzeyi hemen düşer^{1,7,11,20}. Embriyonik hücrelerde siklin E düzeyleri devamlı yüksektir²⁸.

Hücre siklusunda *Rb* aktivitesi ICBP90 transkripsiyon faktörü ile protein düzeyinde düzenlenebilir²⁹. G_1 -S geçişinde, büyüme faktörlerine cevap olarak siklin D düzeyi artar. Siklin D artışı ile siklin D-*cdk 4(cdk 6)* kompleksi oluşur. Siklin D ve *cdk 4*'ün ve de onların aktif komplekslerinin birikimi *p16*'nın inhibitör rolünü ortadan kaldırır ve *Rb* (retinoblastoma gen) fosforillenir^{24,30}. Az fosforillenen *Rb*, E2F transkripsiyon faktörün inaktivasyonuna neden olan histon deasetilaz (*HDAC*) enzimine bağlanır³¹. *Rb*'nin fosforillenmesi S fazının başlaması ve ilerlemesi için gereken genlerin geçici olarak aktivasyonunda rolü olan E2F transkripsiyon faktörün baskılanmasını kaldırır. G_1 de siklin E -*cdk2* kompleksi (MTOC) mikrotübülleri organize eden merkezin iki sentromere dublikasyonunu aktive eder³².

Siklinlerin uyarıcı etkileri CDK inhibitörleri CKI tarafından önlenmektedir. G_1/S fazı geçişi için önkoşul CKI ların baskılanmasıdır. Örneğin hücre siklusuna giriş için siklin D₁ düzeyinin yükselmesi yeterli değildir. *ERK* (extracelllular signal regulated kinase) aktivasyonu da geç G_1 'de *cdk*'ların aktivitesini artırmak için birkaç aşamada rol oynar. *ERK* aynı zamanda CKI'ların inhibisyonunda da rol oynamaktadır³³.

G_1 fazı boyunca hücre çoğalmasını engelleyen birçok genin baskılanması için *ERK*'in sürekli aktivitesi gereklidir. Tek başına *ERK* aktivasyonu hücre siklusuna girişi sağlamaya yetmez. Vücut hücrelerinde *ERK*, hücre siklusunun G_2/M fazında aktive olur. Metafazda tutulan hücrelerde *ERK* fosforillenmemiş durumdadır³³. Eş zamanlı çoğalan (senkronize) HeLA ve NIH 3T3 hücrelerinde *ERK*'in aktivasyonunun S fazının sonuna doğru meydana geldiği ve mitoz sonuna kadar aktif halde kaldığı belirlenmiştir. *MEK* (*MAPK* kinaz) inhibitörleri ile *ERK* aktivasyonu bloke edildiğinde mitoz girişin geciktiği ardından metafazdan anafaza gecikmeli geçişin mitoz süresinin uzamasına neden olduğu belirtilmektedir³⁴. G_2/M geçişinde *ERK* inhibe edildiğinde M faz süresi iki kat artar. *ERK* aktivasyon yolları henüz tam olarak anlaşılabilmiştir³³.

Genellikle normal hücrelerde *p53*, *MDM2* proteinine bağlı olarak inaktiftir. *p53* ubiquitin ligazla yıkıma uğradıktan sonra aktive olur. Aktive olan *p53*, *p21* ekspresyonunu aktive eder. *p21* G_1 -S (*cdk*) ve S

(cdk) komplekslerine bağlanarak onları inhibe eder ve hücre siklusu durur. Siklusun durması hücreye tamir için zaman kazandırır.

Radyasyon ve ilaç gibi hücrenin strese maruz kaldığı durumlarda DNA hasarı olursa, hücre bu uyarıya *p53* düzeyini artırarak yanıt verir. *p21*'in aktivasyonu sağlanarak G_1 kontrol noktasında Rb proteinin daha fazla fosforlanması önlenerek hücre siklusu durdurulur. *p21* siklin-cdk kompleksini inhibe etmesi yanında "proliferating cell nuclear antijen (*PCNA*)i de inhibe eder³⁵. Timidin ve metotraksat (methotraxate) gibi ilaçlar hücre siklusunun ilerlemesini engeller³⁶.

1-3. Normal hücrelerde G_2 -M geçişi

Hücreler DNA sentezinden sonra G_2 fazına girer. Siklin B-cdk1 kompleksinin aktivitesi artar, mitozu giriş uyarılır^{9,19,37}. Siklin B-cdk1 kompleksi mitozu ilerleten faktör (MPF) olarak da isimlendirilmektedir. Geç S fazında siklin B sentezlenmeye başlar ve sentez mitoz boyunca devam eder, mitoz tamamlandığında siklin B düzeyi hızla düşer. Bu düşüş aktif MPF kompleksinin oluşmasını ve ikinci hücre bölünmesini engeller. Siklin B düzeyi sitoplazma ve çekirdek arasında aktif taşınımıyla düzenlenir. İnterfaz (G_1 , S, G_2) aşamasında siklin B sitoplazmadadır. Mitoz başlangıcında siklin B cdk 1'e bağlanarak aktif MPF kompleksini oluşturur. İnhibe edici fosforillenme aynı zamanda MPF aktivitesi-ni düzenleyebilir. cdk1 altbiriminin ikinci kez fosforillenmesi siklin B-cdk1 kompleksi-ni inaktive eder. *Wee 1*, nükleer protein kinaz, çekirdekte MPF kompleksini inaktive ederek erken mitozu engeller^{11,20,38}. *Wee1*'in cdk1 altbiriminin ATP bağlama bölgesini fosforillemesi ile MPF kompleksi inaktive olur.

Myt 1, Golgi aygıtında lokalize olan protein kinazdır. *Myt 1*, cdk1'i fosforiller ve interfazda onun siklin B ile bağlanmasını düzenler^{11,20}. *Cdc25*, cdk'lardan inhibe edici fosfat gruplarını kaldıran fosfatazdır. *Cdc 25* hücre siklusunun çeşitli fazlarına ilerlemeyi kontrol eder³⁹. Bu aşama mitozu girişte hız sınırlayıcı basamaktır. *cdc25b* proteininin G_2 fazında birikimi ilk MPF aktivasyonunda kritik rol oynar. *cdc25c* protein düzeyi hücre siklusunun bütün fazları boyunca sabit kalır. G_2 -M geçişinde, *cdc25c* çekirdekte birikir ve mitoz başlangıcında MPF kompleksini aktive eder. DNA'sı replike olmamış hücrelerin mitozu girişte MPF kompleksinin inaktive olması ile önlenir^{11,20,40}. G_1 fazını geçen hasarlı hücreleri ortadan kaldırmak için G_2 fazı kontrol noktalarında siklin-cdk-CKI sistemi gereklidir^{11,20}. Bu kontrol noktası sağlam olmayan kromozomların ayrılmasını önler⁵. G_2 fazında, S fazında replike olmuş DNA ve kromatin proteinleri kondanse olur ve kardeş kromatidler olarak paketlenirler. Mitozun metafaz aşamasında kromozomlar ekvator plağına dizilir, ardından kutuplara çekildikten sonra iki yavru hücreye bölünür. Sentro-merler mikrotübüllere

bağlanamazsa mitoz gecikir. Bu olaylarda siklin B-cdk1 gereklidir. Siklin B-cdk1 kompleksi aynı zamanda (MPF) M fazının ilerlemesinde de anahtar rol oynar. Marumato ve ark. siklin B-cdk1(*cdc-2*) aracılı fosforilasyonla indirek olarak *aurora-A*'nın aktive olduğunu bildirmişlerdir⁴¹. Siklin B-cdk1 (*cdc-2*) çekirdeğe girişte gereklidir. *Aurora A*'nın aktivasyonu nükleer translokasyonu sağlar ve siklin B cdk1(*cdc-2*)'nin tam aktivasyonu mitozu girişte tetikler. Çeşitli kanser tiplerinde *Aurora A*'nın fazla eksprese olduğu belirlenmiştir^{5,11,20,41,42}.

1-3-1. DNA'sı hasarlı hücrelerin G_2 -M geçişi

DNA hasarından sonra, G_2 bloğunun olması için cdk 1 defosforillenmesinin inhibisyonu gereklidir^{9,43}. DNA hasarı, *cdc-25c*'yi fosforilleyen *chk1* ve 2 protein kinazların aktivasyonunu sağlar. Fosforillenen *cdc-25c*, *14-3-3* proteinlerine bağlanarak çekirdekte sitoplazmaya taşınır. *cdc25c* çekirdek içinde bulunursa, siklin B-cdk1 kompleksini aktive eder. Bunun yanı sıra siklinB-cdk1 kompleksinin aktivitesine gereken çekirdek içindeki *cdc25c* miktarının yetersiz olmasından dolayı G_2 blok aktive olur. Aynı zamanda *p53* de G_2 -M geçişinde rol oynayabilir⁹. DNA hasarında *p53* stabil kalmakta ve *14-3-3* transkripsiyonel olarak aktive olmaktadır. Aktive olan *14-3-3* fosforillenmiş *cdc 25c*'e bağlanır ve kompleksi sitoplazma içinde tutar, böylece mitozu geçişe uygun aktif siklin B-cdk1 kompleksi azalır¹¹.

p21 ve *p53* ikinci tur DNA sentezi yapmış fazla DNA'lı hücreleri G_2 ve M fazında engeller^{5,39}. *p53*, G_2 'ye girişte inhibe eden *14-3-3* gen transkripsiyonunu artırarak bu geçişi önlemektedir. *14-3-3 cdc25c* fosfatazla birleşir ve bu kompleks *cdc25c*'nin çekirdeğe girişini inhibe ederek DNA'yı bloke eder^{9,11}.

1-4. Normal hücrelerde mitoz iplikçik kontrol noktası

Mitoz iplikçik kontrol noktası metafazdan anafaza geçişi düzenler^{2,7,11,20,44-46}. Bu kontrol noktası bütün kinetokorlara uygun mikrotübül bağlanmasını kontrol eder ve kinetokor gözetiminde uygun kromozom ayrılmasını sağlar. Mitotik siklinlerin yıkımından sonra anafaz başlar. Mitotik siklinler ubiquitinlendikten sonra proteozomal yıkım olur. Mitotik siklinlerin yıkımı siklinB-cdk1 kompleksini inaktive eder ve bu inaktivasyon mitozun normal bitmesini sağlar^{7,11}. Mitoz iplikçik kontrol noktası olgunlaşmamış kardeş kromatidlerin ayrılmasını engeller. Bu kontrol noktasında rolü olan genler, *MAD1L1*, *MAD2*, *MAD2L1*, *MAD2B*, *BUB1*, *BUBR1*, *BUB3*, *TTK*, *MPS* ve *CDC20'* dir. Bu genler hücre siklusunun kontroluna katılır. Mayadan insana kadar *MAD* ve *BUB* proteinleri korunmuştur. *BUB* ve *MAD* gen ürünleri kinetokor gözetimi ve anafaz düzenlenmesi için gereklidir. *MAD* proteinleri doğru kromozom ayrılmasını, *BUB* gen ürünleri ise mitozun ilerlemesini düzenler⁴⁷. *Drosophila Melanogaster*,

C.elegans ve farede mitoz iplikçik kontrol noktasının tamamen kaybolmasının embriyon ölümüne neden olduğu gösterilmiştir^{7,9,11,48-50}. DNA sentezinden sonra kohesin protein kompleksleri kardeş kromatidleri birarada tutar ve kromozomlar oluşur^{11,20,51,52}. Mitoz iplikçik kontrol noktası anafaz promoting kompleksi (APC) düzenler. CDC20pAPC'yi aktive eder ve *pds1p* ubiquitinlenme ile yıkılır. *Pds1p*'nin yıkılması ile separin *Esp 1* aktive olur ve kohesin salınır, böylece anafazda kardeş kromatidler ayrılır. CDC20p'nin APC'yi aktive etmediği durumlarda kohesin salınmaz, kardeş kromatidler ayrılmaz ve anafazda inhibisyon meydana gelir^{10,53}. CDC20'nin *MAD2*, *BUBR1*, *BUB3* ile kompleks oluşturması anafaza girişi beklemeye alır.

2- Kanser ve kontrol noktası inaktivasyonu

Gen mutasyonlarından dolayı G₁-S geçişindeki değişimler kansere neden olabilir. Kanser hücrelerinin karakteristik özelliklerinden biri büyüme uyarımından bağımsız olarak G₁ fazına tekrar girebilmeleridir. *Rb* fosforillenme/defosforillenme dengesizliği olduğunda, G₁-S fazları arası geçişlerde olan değişiklikler hücrelerin çoğalmasını değiştirebilir. *Rb* gen mutasyonları insan kanserlerinden bazılarında (glioblastoma ve Retino-blastoma vb) tanımlanmıştır. Tümör virüsleri HDAC ile *Rb*'nin bağlanması inhibe edebilir. Siklin D'nin fazla eksprese olduğu bazı durumlarda ise E2F aktifleşmesinden sonra *Rb* inhibisyonunu sağlayan defosforillenme olmadığında S fazına hatalı ilerleme olabilir¹¹.

Kusurlu G₁ siklin E-cdk2 kompleksi sentriollerin hatalı replikasyonunu uyarılmaktadır¹¹. Hücrede iki veya daha fazla sentriolün varlığı anafazda hatalı kromozom ayrılmasına neden olur. Bazı insan kanserlerinde sentriollerin fazla dublikasyonu da belirlenmiştir^{7,11}.

2-1. DNA'sı hasarlı kanser hücrelerinde G₁-S geçişi

Radyasyon v.b. etkenlere maruz kalan hücrelerde hücre siklusunda hatalar olmaktadır^{11,54}. Örneğin Gama radyasyonuna maruz kalan hücrelerde fonksiyonel *p53* geninin yetersiz olmasından dolayı bu hücreler G₁'de tutulamaz ve S fazında hasarlı DNA'yı dublike ederek gen mutasyonuna ve/veya hatalı kromozom dizilimine neden olur^{11,54-56}. Hücre çoğalmasını gen delesyonu, fazla gen ekspresyonu ve nokta mutasyonlar etkilemektedir. İnsan kanserlerinde farklı genlerde nokta mutasyonlar ve delesyonlar vardır¹⁹. İnsan kanserlerinde en sık görülen mutant gen *p53*'tür. Normal bir hücrede DNA hasarı olduğunda, *p53* düzeyi artar ve hücre siklusunu G₁ fazında inhibe ederek DNA onarımı için hücreye zaman kazandırır^{6,43,54}. Hasar tamir edilemiyorsa hücre apoptozise gider⁴³. Hasarlı hücrenin ölümü veya hücre siklusunda kalmasının nasıl sağlandığı tam olarak bilinmemektedir. *p53* mutasyonlarında hücreler

bölmeye devam eder. Bu mutasyonlar sonucunda tümör baskılayıcı fonksiyonlarında kayıp olurken diğer yandan onkogenik fonksiyon ortaya çıkabilir^{11,15,20}. Muskarinik reseptör agonist ve antagonistler varlığında çoğaltılan K562 hücrelerinde siklin D₁ transkripsiyon seviyelerinin değiştiği belirlenmiştir⁵⁷.

Bellamy ve ark. 5 gray gama radyasyonunun fibroblastlarda büyümenin durmasına, aynı doz radyasyonun ince bağırsak kript hücrelerinde ise apoptozise neden olduğunu göstermişlerdir^{5,22}. *p53* aynı zamanda cdk'ların inhibitörü *p21* transkripsiyonunu artırarak da DNA hasarına yanıt verir^{7,11,20}. S fazında eksprese edilen siklin A erken fazda cdk2 ile sonraki fazda cdc ile birleşir. Siklin-cdk kompleksi DNA sentezinin başlama-sında rol oynar, cdk ekspresyonunun inhibisyonu ise hücre siklusunun durmasına neden olur⁶⁹. *ATM* (Ataxia Telangiectasia Mutant kinaz) tarafından *p53*'ün aktivasyonu DNA onarımı ve apoptozisi koordine eden DNA hasar sinyal yollarına aracılık eder⁵⁹. *ATM* çift iplik kırıklarına cevapta ve *ATR* (*ATM* ve *Rad3* related) olarak adlandırılan kinaz diğer tip DNA hasarlarına cevapta önerilmektedir⁶⁰.

Hücre siklusunda *ATM* ve *CHK2* ekspresyonu nispeten devamlı olmasına rağmen *ATR* ve *CHK1* G₁ fazının başında ve ortasında düşüktür. *ATR* ve *CHK1* G₁/S geçişine yaklaştıkça önem kazanır. *ATM/ATR p53* transkripsiyon faktörünü fosforiller. ubiquitin kinaz, *MDM2 p53*'ün hızlı sirkülasyonunu sağlamaktadır^{61,62}. Ayrırcı hedef mekanizmalar hala açıklanamamıştır. *p53*'le uyarılan G₁ fazında duraklamada *p21Cip1/Waf 1*'in rolü vardır⁶⁵. Aynı zamanda *PCNA* (proliferating cell nuclear antigen) inaktive olmaktadır. *PCNA*, DNA sentezini katalize eden, DNA tamirinde yer alan DNA polimeraz delta'nın kofaktörüdür. Sentezi hücre siklusunun geç G₁ fazında başlayarak orta-geç S fazında en yüksek değere ulaşmaktadır^{43,59,60}. *p21*, *cyc*-cdk kompleksini inhibe etmesi yanında *PCNA*'i de inhibe eder. Hücre siklusunun G₁/S fazında durdurulmasında yeni belirlenen nükleer protein ICBP90'un *p53/p21Cip1/WAF 1* aracılı yollarda hedeflerden biri olarak önerilmektedir^{22,43}. İnsan *Rad 9* ve *Rad 17* proteinlerinin S fazı başlangıcındaki kontrol noktasında ve kromozom kararlılığının sürdürülmesinde önemli olduğu belirlenmiştir³⁷. *Rad 9*'un *ATR* kinazla büyük protein kompleksinin fosforillenmesine aracılık ettiği de önerilmektedir⁶⁹.

p53 ve *Rb* protein fonksiyon kaybının nedenleri mutasyon, delesyon veya diğer proteinlerle bağlanma olabilir²⁵. *Rb* kontrolü kanser hücrelerinin bir çok tipinde bozulmaktadır. *Rb* kontrolünün bozulma nedeni *Rb* fosforillenmesinde rolü olan siklin ve cdk'larda onkogenik mutasyonlardır⁶³. *p53* fonksiyonu cdk 4 ve cdk 6 supressorlerinin fazla ekspresyonu ile baskılanır^{9,64}. Genomda onkogenik lezyonlara *p53* fonksiyonunun bozulması neden olur. Bunun nedeni *p53*'ün apoptozis öncesi düzenlenmesinin

gerçekleşmemesidir^{25,41}. Hücre siklusunda kontrolün kalkması *p21*, *p27*, *p57* gibi *p53*'ün downstream genlerinde kusurlara neden olabilir. Cdk'ların ve siklin-cdk komplekslerinin aktivitelerini Cdk (*p21*, *p27*, *p57*)'nin inhibitörleri inhibe eder ve hücrenin S fazına girişini engeller^{4,5,6,7,11,22,25,26,65}. Bazı tümörlerde *cdk4* ve *cdk6*'nın negatif düzenleyicileri olan *p15* ve *p16*'nın mutant olduğu da rapor edilmiştir^{5,22,41,53}. Tümör hücrelerinin bir kısmında *cdc4* de kusurlar veya *cdc4*'ün ekspresyonunun fazla olmasından dolayı siklin E düzeyi normal değildir. Bazı tümör hücrelerinde siklin E-cdk2'nin negatif düzenleyicisi olan *cdk* inhibitörü, *p27*'nin kayb olduğu da belirlenmiştir^{56,60}.

2-1-1. p53 aracılı apoptozis

p53 ve *Bcl 2*, programlı hücre ölümünde anahtar rol oynayan genlerdir⁶⁶. Normalde *p53* hücre akibetini belirleyen moleküler ağı düzenler. *cMyc* (nükleer fosfoprotein) *p53*'ü seçici olarak aktive eder ve *p53* apoptozisi başlatır^{2,5,22,43}. Nükleer fosfo protein *cMyc*, *Fas* ligand ve *Fas* reseptörle birleşir. Bu proteinin *p53* bağımlı ve bağımsız yollar ile sitokrom c salınımını indükleyen *bax*'ın transkripsiyonunu düzenlediği de düşünülmektedir^{6,65}. Hasarlı hücrelerde fonksiyonel *p53* yoksa, hücre siklusu kontrol noktaları tarafından kontrol edilmeden siklus ilerler^{5,9}. *p53*'ün düzenleyici aktivitesini geçtiğini gösteren alternatif yol ise *p53*'ün negatif düzenleyicisi *Mdm2* (murine double minute 2) dir. *Mdm2* proteini, *p53*'ü kontrol altında tutar ve *p53*'ün G₁/S geçişinde siklusu durdurmasını ve apoptozisi engeller. Radyasyon ve benzeri etkenlerle hücre etkilendiğinde *Mdm2* proteininin *p53*' bağlanma bölgesinde yapısal değişiklikler meydana gelir. Bu nedenle *Mdm2* *p53*'ü bağlayamaz ve serbest *p53* transkripsiyonel aktivitesi ile G₁ ve G₂ kontrol noktalarında siklusu durdurur ve *bax* genini aktive ederek apoptozise neden olur⁵⁸. *Mdm2*, *p53*'ün transkripsiyonunu azaltır ya da *p53*'e bağlanarak aktivitesini inhibe edebilir. Lösemi, lenfoma, sarkoma glioma ve meme kanserinde *Mdm2* gen amplifikasyonu gösterilmiştir². Çok organize bir işlem olan apoptozis zararlı ve anormal hücrelerin yıkımını sağlamaktadır^{3,11,65}. Apoptozis yolunda iki düzeyde mekanizma bozuklukları görülür: 1. Apoptozisi düzenleyen genlerde mutasyon ve bu nedenle apoptozise gitmeyen hücrelerin yaşamasıdır, 2. Apoptozise direnç geliştiren hücrelerin Darwinizm (doğal seçim) ile seçilip yaşamaya devam etmesidir⁶⁶.

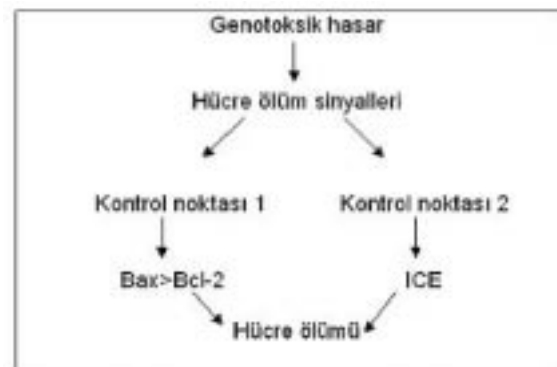
2-1-2. Apoptozise karşı mekanizmalar

Bcl 2 hücre ölümünü inhibe ederek hücreyi apoptozise karşı korumaktadır^{21,66,67,68}. Bu ailenin diğer üyelerinden *Bcl-xL*, *mcl* ve *bag 1* hücre ölümünün inhibitörleri iken *bad*, *bax* ve *bik* apoptozisi iletirler^{3,67}. *GADD45* (a growth arrest and DNA damage (gadd)-induced gene) hücre siklusunun G₂-M kontrol noktasında önemli rolü olan nükleer proteindir. Bu

protein *cdc2* proteini ile etkileşerek *cdc2* kinaz aktivitesini inhibe etmektedir. *cMyc*, *GADD45* ve *cki* genleri *p15*, *p21*, *p27*'yi baskılayarak hücre büyümesini sağlar^{2,7,9}. Yaşam faktörleri olmadığında *c-Myc* onkogeni hücreleri apoptozise götürür^{68,69,70}. Apoptozis öncesi ve sonrası olaylar tamamen açık değildir. *Bcl-2* mitokondrinin dış zarında bulunur ve mitokondriden sitokrom c salınımını bloke eder^{56,70}. Sitokrom c kaspazları aktive ederek apoptozisi indüklemektedir^{3,5,36,67}. *Bcl-2*'nin ekspresyon düzeyi apoptozisi belirleyen faktörlerden birisidir. *Bcl-2* ekspresyonu fazla olan hücreler hücre ölümünden kaçabilir^{30,65}. Antiapoptotik *Bcl-2* üyeleri kaspaz aktivasyonunu önleyerek antiapoptotik etki gösterirler. Bazı çalışmalarda *Bcl-2* çok yüksek bulunmasına rağmen hücre ölümünün arttığı da gösterilmiştir⁷. NF-κB transkripsiyon faktörünün *Bcl-2* ailesini up-regule ettiği bilinmektedir. *Bcl-2* aynı zamanda *Ras2*'nin antiapoptotik aktivitesini de düzenler². *Bcl-2*'nin diğer düzenleyici mekanizması, *bax* gibi büyüme düzenleyicilerinin aktivitesini inhibe ederek apoptozisi engellemektedir^{2,7,25,43,67}.

2-1-3. Apoptozis kontrol noktaları

Apoptozisin olup olmayacağını *Bax* ve *Bcl-2* dengesinin doğruluğu belirler^{7,62}. Hücrelerin apoptozise gitmesi için *Bax* düzeyinin *Bcl-2*'den fazla olması gerekir^{4,5,9,25}. Bu mekanizma apoptozisde kontrol noktası 1 olarak önerilmiştir^{25,64} (Şekil 4). Yaban tip *p53* varlığında *Bcl-2* ekspresyonu az olan hücreler apoptozise gider^{5,71}. Tersisi olursa yaban tip *p53* az, *Bcl-2* fazla ise çok mutasyon olabilir. Bunun nedeni hücre proliferasyonunun aktive olmasıdır^{3,9,25}. *Bcl 2* ailesinin en büyük proteini *Bcl-XL*, *Bcl-2*' ye benzer yolda hareket eder ve *Bcl-2* aktivitesini baskılayan *Bak* apoptozise neden olur^{5,9,19,43,68,72,77}. Apoptozis yolağında ikinci kontrol noktası çok iyi belirlenmemiştir. Interlökin converting enzim (ICE) prokaspaz 1 olarak bilinmektedir. ICE DNA onarım enzimleri ile etkileşmektedir^{9,25}. Polyadenosin difosfat-riboz polimeraz DNA kırıklarını tanır ve DNA onarımına katılır. Nükleer membran proteini lamin A, PARP'ı parçalar ve apoptotik hücre morfolojisi meydana gelir. ICE ile PARP inaktive olursa, apoptozis başlar^{9,68}.



Şekil 4: Apoptozis kontrol noktaları (8)

2-2. Kanser hücrelerinde G₂-M geçişi:

Kanser gelişiminde ve/veya hastalığın ilerlemesinde G₂-M geçişinde değişimlerin rol oynadığı belirlenmiştir. İyonize edici radyasyon Ku homoloğu olan protein kinazları, ataxia telegiectasia mutant (*ATM*) ve *ATR* ilişkili (*ATR*) genleri aktive eder⁷⁴.

Mayada yapılan çalışmalarda telomer idamesi ve DNA onarımı arasındaki bağlantı gösterilmiştir⁷⁵. *Ku*, DNA kırıklarının onarımında homolog olmayan uçlar için gereklidir. *Ku* telomerik DNA'ya bağlanır ve G zengin dizilerin işlenmesine katılır. Telomer idamesinde rolü olan *Ku*, DNA'larında çift iplik kırığı olan hücrelerin G₂-M geçişinde aktive olmaktadır⁷⁶.

Chk1 ve *Chk2* protein kinazlar ilk olarak mayada gösterilmiştir. Bu kinazlar, DNA hasarı sonucu aktive olan hücre siklus kontrol noktalarında önemli rol oynamaktadır. Mutant *Chk2* Li-Fraumeni sendromlu hastalarda bulunmuştur^{11,20,77}. *Chk2* tümör baskılayıcı gen olmaya adaydır. DNA hasarının ardından, *Chk1* ve *Chk2* yalnız G₂ bloğunu uyaran *cdc25c*'yi fosforillemez; aynı zamanda stabilizasyon için *p53* fosforilasyonunu da uyarır. Mikrotübül inhibitörlerinin yaban (wild) tip *p53*'ü fare embriyo fibroblastlarına verilmesi ile G₂-M geçiş bloğu aktive olmaktadır bunun yanısıra mutant *p53*'lü hücrelerde hücre siklusu durdurulamamıştır. Bu blok kromozomların ayrılması ve mitoz tamamlanmadan önce diğer S fazına geçişi önleyerek aneuploidiyi engellemektedir. Böylece mutant *p53* uygun kromozom ayrılması olmaksızın tekrar tekrar döngüye neden olarak genomik dengesizliğe neden olmaktadır (örneğin aneuploidi). Bu *cdk*'lerin aktivitelerinin inhibisyonu ile gerçekleşir^{11,20,35}. Bu geçişin inhibisyonu *p53*'ün G₂'ye girişi inhibe eden *I4-3-3* geninin transkripsiyonunu artırmasıyla sağlanmaktadır. *I4-3-3 cdc25c* kompleksi, *cdc 25c*'nin çekirdeğe girişini engeller^{9,36}. Memelilerde DNA hasarı sonucunda tetiklenen sinyal ileti kaskadında *ATM* ve *ATR* protein kinazların önemli rolleri vardır. *chk1* ve *chk2* bu kinazların kontrol noktası fonksiyonlarına aracılık etmektedir⁷⁸. *ATM* ve *ATR* stress olmadığında aktive olmazlar, strese maruz kalınca aktive olmaktadırlar. *ATM* kinaz normal hücre siklusu ilerlemesinde veya hücre farklılaşmasında gerekli değildir⁷⁹.

2-3. Kanser hücrelerinde mitoz iplikçik kontrol noktası

Bazı araştırmacılara göre kanser gelişimini ve genomik dengesizliği mutasyon oranları ile açıklamak mümkün değildir^{11,12,80-82}. Genomik dengesizlik somatik hücre gen mutasyonu veya aneuploidi gibi kromozom anomalileri içerebilir. Aneuploidi tümör baskılanmasında, hücre siklusunun düzenlenmesinde, sentrozom oluşumu ve fonksiyonunda, hücre büyümesi, metastaz ve metabolizmada bulunan çok sayıda genin dengesizliği olarak tanımlanabilir.¹¹

Kanser gelişimi ve ilerlemesinde aneuploidilerde mitotik kontrol noktası içindeki *MAD* veya *BUB* genlerindeki mutasyonların rol oynayabileceği önerilmektedir^{7,44}. Bu mutasyonlar mitotik kontrol noktası değişimine, metafazdan anafaza geçiş sırasında kromozomların yanlış ayrılmasına ve aneuploidiye neden olur. Bu tip mutasyonlar ilk olarak aneuploidi fenotipli olarak sınıflandırılan 19 kolorektum kanser hücre soyunda çalışılmıştır^{7,44}. Ondokuz hücre soyundan ikisinde *BUB1* geninde farklı mutasyonlar belirlenmiştir. Aneuplodili bireylerde *hbUB1* geninde kalıtsal mutasyonlar bulunmuştur⁸³. *BUB1* üç fonksiyonel domain içerir: bunlar CD1, nükleer lokalize edici domain (NLS) ve kinaz domain (CD2)'lerdir. CD1 içinde çerçeve kayması ve anlamsız mutasyonlar bulunmuş, NLS veya CD2 domainlerinde ise mutasyon bulunmamıştır. Farklı araştırmacılar aneuploidi belirlenen kanserlerde *BUB* ve *MAD* genlerinde mutasyonlar bulmuştur^{7,83}. Fakat bu mutasyonlar ile ilgili çalışmalar hala yetersizdir. İnsan kanserlerinde mitoz iplikçik kontrol noktaları hakkında bilinenler çok azdır. İnsan kanserlerinin çoğunda mutant *MAD1*'in kromozom instabilitesine neden olduğu belirlenmiştir¹¹.

Aurora kinaz ailesi hücre siklusunu G₂/M kontrol noktasından sonra mitoz kontrol noktasında veya mitozun sonuna doğru rol oynar⁸⁴⁻⁸⁷. Aurora kinazlar hatasız hücre bölünmesi için gereklidir⁸⁴. Aurora kinazların kromozom dizilimi, kromozom ayırımında ve sitokinesisde önemli rolleri vardır. Aneuploidi olan tümörlerde Aurora kinaz'ın fazla ekspresyonu ve sentrozom amplifikasyonu belirlenmiştir⁸⁸.

Aurora A kinaz *p53* gibi tümör baskılayıcı proteinleri fosforilleyerek onların aktivitelerini de düzenlemektedir⁸⁵. Aurora A ve B'nin *ras* yolağı aracılığı ile hücre transformasyonuna neden olduğu gösterilmiştir⁸⁶⁻⁸⁸. Bu nedenle Aurora kinaz inhibitörleri ile hücre siklusu bloke edilerek kanser tedavisine yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Aurora B kinaz inhibitörü AZD1152 lösemi tedavisine yeni etken madde olarak önerilmektedir⁸⁹.

2-4. Kanser hücrelerinde sentriol anomalileri

Kanser hücrelerinde sentriollerin fazla duplike olduğu belirlenmiştir. Normal hücreler, hücre siklusunun G₁ fazında siklinE-cdk2 kompleksleri ile sentriol kopya sayısını düzenler^{11,32}. Anormal spindle (*asp*) gen ürünü mikrotübül assosiyasyon proteindir. *Asp* proteini kutuplarda herbir mitotik iplikçiğin herbir sentrozoma bağlanmasında rol oynar. Mitozun metafazdan anafaza geçişte tutulmasının nedeni *asp* mutasyonu sonucu anormal iplikçik morfolojisidir. *p53*, sentrozom replikasyonunda rol oynayabilir¹¹. Fonksiyonel *p53* proteini olmayan fare embriyo hücrelerinde bir hücre siklusu sırasında çok sayıda sentrozom kopyası gösterilmiştir. Mitoz sırasında sentrozom sayısının çok olmasının kromozomların

yanlış dağılımına ve bu nedenle aneuploidiye yol açtığı bildirilmiştir^{7,11}.

2-5. Tedavi potansiyeli

İnsan kanserlerinin %50'sinden daha fazlasında *p53* mutasyonunun olduğu rapor edilmiştir^{84,90}. Düzenleyici sinyal yollarında anahtar oyuncuların rolünün anlaşılması, bilgi artışının yanısıra tedavi hedef ve stratejilerinin belirlenmesine katkı sağlayacaktır. (7hidroksistaurosporin) UCNO1 olarak tanımlanan antikanser etkeninin *cdc25c*'yi inhibe ederek G₂/M kontrol noktasını bozduğu rapor edilmiştir. Kemoterapi ve radyoterapi gibi anti-kanser tedavilerine direnç, DNA hasar kontrol noktalarının değişmesi ile mümkün olabilir⁹¹. Kansere karşı ilaç tedavisinin gelişimi hücre transformasyonu içinde moleküler hedeflere daha fazla odaklanmak gereklidir. Araştırmalar hücre siklus kontrolünün düzenleyen kimyasal cdk inhibitörlerinin araştırılmasına dönmüştür^{2,84}. Kanser gelişmeden önce *p53* ve *pRb* mutasyonlarının taranması da tümör gelişiminin erken teşhisine olanak sağlayacaktır^{72,90}. Bir grup araştırıcı siklin A veya E'nin fazla ekspresyonunu ve *p53* mutasyonunu "border line" ve invazif yumurtalık kanserlerinde göstermişlerdir^{9,92}. Check point kinase 1 (*Chk 1*) kanser tedavisinde yeni hedef olarak gösterilmektedir⁹³. Kemoterapik etkenlere direnç gösteren yumuşak doku sarkomalarında G₂/M kontrol noktasının korunduğunu göstermek için immunhistokimyasal analizler kullanılmıştır.

Sonuç

Hücre siklusunda olaylar kaskadını düzenleyen ve kontrol eden etkileşimler çok sayıda ve komplekstir. Tümör baskılayıcı fonksiyonun ve programlı hücre ölüm yollarının anlaşılması yönünde ilerlemeler olmasının yanısıra çözümlenmemiş çok sayıda soru vardır. Kemoterapi ve biyoterapi için hücre siklus kontrol noktaları büyük potansiyele sahip hedeflerdir. Kemoterapi ve radyoterapi sonrası kanser hücrelerinin yaşaması onarım yollarındaki hasarlara bağlı olabilir. Hücre siklus kontrol noktalarında ve DNA onarım yollarındaki moleküler bileşenlerin daha iyi anlaşılması için *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar klinik çalışmalarla da desteklenmelidir^{7,9,11,33,80,93,94}.

KAYNAKLAR

- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell JE. Molecular Cell Biology. 4th edition: WH Freeman and Co, New York, 2000.
- Vermeulen K, VanBockstaele DR, Berneman Z N. The cell cycle : a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer. Cell Prolif 2003; 36: 131-49.
- Guimaras CA, Linden R. Apoptosis and alternative deastyles. Eur J Biochem 2004; 271: 1638-50.
- Zong WX, Thompson CB. Necrotic death as a cell fate? Genes Dev 2006; 20 : 1-15.
- Bellamy COC. p53 and apoptosis. Br Med Bull 1996; 53(3): 522-38.
- DeVita Jr VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer: principles and practice of oncolgy. 5th edition: Lippincott-Raven, Philadelphia, 1997.
- Vermeulen K, Berneman ZN, vanBockstaele DR. Cell cycle and apoptosis. Cell Prolif 2003; 36: 165-75.
- Öndağ Cabadak H. İnsan periferel kan ve fibroblast hücre kültürlerinin sinkronizasyonu ve sinkronize hücre kültürlerinden kromozom analizi ve karyotip hazırlanması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 1987.
- Foster I. Cancer: A cell cycle defect. Radiography 2008; 14: 144-9.
- Hu W, Feng Z, Teresky AK, Levine AJ. p53 regulates maternal reproduction through LIF. Nature 2007; 450(7170): 721-4.
- Kearns WG, Liu JM. Cell cycle checkpoint genes and aneuploidy: A short review. Current Genomics 2001; 2: 171-80.
- Giacinti C, Giordano A. RB and cell cycle progression. Oncogene 2006; 25: 5220-7.
- Kelly TJ, Brown GW. Regulation of chromosome replication. Annu Rev Biochem 2000; 69: 829-80. |
- Prasanth SG, Mendez J, Prasanth KV, Stillman B. Dynamics of pre-replication complex proteins during the cell division cycle. Phil Trans R Soc Lond B 2004; 359: 7-16.
- Flatt PM, Pietenpol JA. Mechanisms of cell-cycle checkpoints: at the cross roads of carcinogenesis and drug discovery. Drug Metab Rev 2000; 32: 283-305.
- Sears RC, Nevins JR. Signalling networks that link cell proliferation and cell fate. J Biol Chem 2002; 277: 11617-20.
- Stevaux O, Dyson NJ. A revised picture of the E2F transcriptional network and RB function. Curr Opin Cell Biol 2002; 14: 684-91.
- Fearson E. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. Science 1997; 278: 1043-50.
- Molinari M. Cell cycle check points and their activation in human cancer. Cell Prolif 2000; 33: 261-74.
- Cheng M, Sexl V, Sherr C, Raussel M. Assembly of cyclin D-dependent kinase and titration of p27Kip1 regulated by mitogen-activated protein kinase kinase (MEK1) Proc Natl Acad Sci 1998; 95: 1091-4.
- Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle and cancer. Science 1994; 266: 1821-8.
- Kirsch DG, Kastan MB. Tumor-suppressor p53: implications for tumor development and prognosis. J Clin Oncol 1998; 16(9): 3158-68.
- Dyson NJ. A revised picture of the E2F transcriptional network and RB function. Curr Opin Cell Biol 2002; 14(6): 684-91.
- Weinberg R. The retinoblastoma protein and cell cycle control. Cell 1995; 81: 323-30.
- King RJB. Cancer biology, Longman, 1996.
- Fearson E. Human cancer syndromes: clues to the origin and nature of cancer. Science 1997; 278: 1043-50.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. Cell 2000; 100: 57-70.
- Murray AW. Recycling the cell cycle: cyclins revisited. Cell 2004; 116: 221-34.

29. Hopfner R, Mousli M, Jeltsch JM, Voulgaris A, Lutz Y, Marin C, Bellocq JP, Oudet P, Bronner C. ICBP90, a novel human CCAAT binding protein, involved in the regulation of topoisomerase II expression. *Cancer Res* 2000; 60: 121-8.
30. Harbour JW, Dean DC. The Rb/E2F pathway: expanding roles and emerging paradigms. *Genes Dev* 2000; 14: 2393-409.
31. Zhang HS, Postigo AA, Dean DC. Active transcriptional repression by the Rb-E2F complex mediates G1 arrest triggered by p16INK4a, TGFbeta, and contact inhibition. *Cell* 1999; 97: 53-61.
32. Hinchcliffe EH, Thompson EA, Maller JL, Sluder G. Requirement of Cdk2-cyclin E activity for repeated centrosome reproduction in *Xenopus* egg extracts. *Science* 1999; 283 (5403): 851-4.
33. Champard JC, Lefloch R, Pouyssegur J, Lenormand P. Erk implication in cell cycle regulation. *Biochem Biophys Acta* 2007; 1773(8): 1299-310.
34. Roberts EC, Shapiro PS, Nahreini TS, et al. Distinct cell cycle timing requirements for extracellular signal regulated kinase and phosphoinositide-3-kinase signalling pathways in somatic cell mitosis. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 7226-41.
35. Harper J, Adami G, Wei N, et al. The p21 Cdk-interacting protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. *Cell* 1993; 75: 805-16.
36. Ondağ H. Effects of excess thymidine and methotrexate on human peripheral blood and fibroblast culture, NATO-ASI The Enzyme Catalysis Process Book, 1998.
37. Pines J, Hunter T. Human cell division: the involvement of cyclins A and B1 and multiple cdc2s. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1991; 56: 449-63.
38. Heald R, McLoughlin M, McKeon F. Human wee1 maintains mitotic timing by protecting the nucleus from cytoplasmically activated cdc2 kinase. *Cell* 1993; 74: 463-74.
39. Strausfeld U, Labbé JC, Fesquet D, et al. Dephosphorylation and activation of a p34cdc2/cyclin B complex in vitro by human CDC25 protein. *Nature* 1991; 351 (6323): 242-56.
40. Draetta G, Eckstein J. Cdc25 protein phosphatases in cell proliferation. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1332: M53-M63.
41. Marumato T, Hirota T, Morisaki T, et al. Roles of aurora-A kinase in mitotic entry and G2 check point in mammalian cells. *Genes Cells* 2002; 7: 1173-82.
42. Giono LE, Manfredi JJ. The p53 tumor suppressor participates in multiple cell cycle check points. *J Cell Physiol* 2006; 209: 13-20.
43. Maddika S, Ande SR, Panigrahi S, Paranjothy T, Weglarczyk K, Zuse A, Eshraghi M, Manda KD, Wiechec E, Los M. Cell survival, cell death and cell cycle pathways are inter connected: Implications for cancer therapy. *Drug Resist Updat* 2007; 10: 13-29.
44. Cahill DP, Lengauer C, Yu J, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz SD, Kinzler KW, Vogelstein B. Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers. *Nature* 1998; 392: 300-3.
45. Cahill DP, da Costa LT, Carson-Walter EB, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C. Characterization of MAD2B and Other Mitotic Spindle Checkpoint Genes. *Genomics* 1999; 58: 181-7.
46. Ouyang B, Meadows J, Fukasawa K. Human Bub1: a putative spindle checkpoint kinase closely linked to cell proliferation. *Cell Growth Differ* 1998; 9(10): 877-85.
47. Sazer S. The *Schizosaccharomyces pombe* spindle checkpoint protein mad2p blocks anaphase and genetically interacts with the anaphase-promoting complex. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94(15): 7965-70.
48. Basu J, Bousbaa H, Logarinho E, Williams BC, Sunkel CE, Goldberg ML. Mutations in the essential spindle checkpoint gene bub1 cause chromosome missegregation and fail to block apoptosis in *Drosophila*. *J Cell Biol* 1999; 146(1): 13-28.
49. Kitagawa R, Rose AM. Components of the spindle-assembly checkpoint are essential in *Caenorhabditis elegans*. *Nat Cell Biol* 1999; 1(8): 514-21.
50. Dobles M, Liberal V, Scott ML, Benezra R, Sorger PK. Chromosome missegregation and apoptosis in mice lacking the mitotic checkpoint protein Mad2. *Cell* 2000; 101(6): 635-45.
51. Waizenegger IC, Hauf S, Meinke A, Peters JM. Two distinct pathways remove mammalian cohesin from chromosome arms in prophase and from centromeres in anaphase. *Cell* 2000; 103(3): 399-410.
52. Roberts BT, Farr KA, Hoyt MA. The *Saccharomyces cerevisiae* checkpoint gene BUB1 encodes a novel protein kinase. *Mol Cell Biol* 1994; 14(12): 8282-91.
53. Taylor SS, McKeon F. The human homologue of Bub3 is required for kinetochore localization of Bub1 and a Mad3/Bub1-related protein kinase. *J Cell Biol* 1998; 142(1): 1-11.
54. Chipuk JE, Green DR. Dissecting p53-dependent apoptosis. *Cell Death Differ* 2006; 13: 994-1002.
55. Katsan MB, Bartkova JK. The retinoblastoma protein pathway in cell cycle control and cancer. *Exp Cell Res* 1997; 237: 1-4.
56. Sherr C, McCormick F. The Rb and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* 2002; 2: 103-12.
57. Cabadak H, Aydın B, Kan B. Muscarinic agonist and antagonists changes muscarinic receptor and cyclin D1 expression in K562 cells. *EMBO " Molecular mechanisms of cell cycle control in normal and malignant cCells. Spetses Island-Greece, 5-8 October 2007: 53.*
58. Reifemberger G, Reifemberger J, Ichimura K, et al. Amplification of multiple genes from chromosomal region 12q13-14 in human malignant gliomas: preliminary mapping of the amplicons shows preferential involvement of CDK4, SAS and MDM2. *Cancer Res* 1994; 54: 4299-303.
59. Arima Y, Hirota T, Bronner C, et al. Down regulation of nuclear protein ICBP 90 by 53/p21Cip1/WAF1 dependent DNA damage checkpoint signals contributes to cell cycle arrest at G1/S transition. *Genes Cells* 2004; 9: 131-42.
60. Dang T, Bao S, Wang X. Human Rad 9 is required for the activation of S-phase check point and the maintenance of chromosomal stability. *Genes Cells* 2005; 10: 287-95.
61. Wahl GM, Carr AM. The evolution of diverse biological responses to DNA damage: insights from yeast and p53. *Nature Cell Biol* 2001; 3: E277-86.
62. Craig A, Scott M, Burch L, Smith G, Ball K, Hupp T. Allosteric effects mediate CHK2 phosphorylation of the p53 transactivation domain. *Embo Rep* 2003; 4: 787-92.
63. Massagué J. G1 cell-cycle control and cancer. *Nature* 2004; 432: 298-306

64. Latham K, Baker GL, Musunuru K, et al. Cell cycle control and differentiation: mechanisms of proliferative dysfunction in cancer cells. *Cancer Detect Prev* 1996; 20: 5.
65. Kaldis P. The cdk-activating kinase (CAK): from yeast to mammals. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 284-96.
66. Decuadin D, Geley S, Hirsch T, et al. Bcl-2 and Bcl-XL antagonize the mitochondria dysfunction preceding nuclear apoptosis induced by chemotherapeutic agents. *Cancer Res* 1997; 52: 62-7.
67. Story M, Kodym R. Signal transduction during apoptosis; implications for cancer therapy. *Front Biosci* 1998; 3: d365-75.
68. Dixon S, Soriano BJ, Lush RM, Bomer MM, Figg WD. Apoptosis: its role in the development of malignancies and its potential as a novel therapeutic target. *Ann Pharmacother* 1997; 31: 76-82.
69. Evan G, Littlewood T. A matter of life and cell death. *Science* 1998; 281: 1317-21.
70. Jin S, Antinore MJ, Lung FD, Dong X, Zhao H, Fan F, Colchagie AB, Blanck P, Roller PP, Fornace AJ, Jr Zhan Q. The GADD45 inhibition of Cdc2 kinase correlates with GADD45-mediated growth suppression. *J Biol Chem* 2000; 275 (22): 16602-8.
71. Harms-Ringdahl M, Nicotera P, Radford JR. Radiation induced apoptosis. *Mutat Res* 1996; 366: 171-9.
72. Sattler M, Liang H, Nettekheim D, Meadows RP, et al. Structure of Bcl-xL- Bak peptide complex recognition between regulators of apoptosis. *Science* 1997; 275: 983-6.
73. Taya Y. Rb kinases and Rb-binding proteins: new points of view. *TIBS* 1997; 22: 14-7.
74. Smith GC, Divecha N, Lakin ND, Jackson SP. DNA-dependent protein kinase and related proteins. *Biochem Soc Symp* 1999; 64: 91-104.
75. Peterson SE, Stellwagen AE, Diede SJ, Singer MS, Haimberger ZW, Johnson CO, Tzoneva M, Gottschling DE. The function of a stem-loop in telomerase RNA is linked to the DNA repair protein Ku. *Nature Genet* 2001; 27(1): 64-7.
76. Stellwagen AE, Haimberger ZW, Veatch JR, Gottschling DE. Ku interacts with telomerase RNA to promote telomere addition at native and broken chromosome ends. *Genes Dev* 2003; 17: 2384-95.
77. Bell DW, Varley JM, Szydlo TE, Kang DH, Wahrer DC, Shannon KE, Lubratovich M, Verselis SJ, Isselbacher KJ, Fraumeni JF, Birch JM, Li FP, Garber JE, Haber DA. Heterozygous germ line hCHK2 mutations in Li-Fraumeni syndrome. *Science* 1999; 286(5449): 2528-31.
78. Takagaki K, Katsuma S, Kaminishi Y, et al. Role of Chk1 and Chk2 in Ara-C-induced differentiation of human leukemia K562 cells. *Genes Cells* 2005; 10: 97-106.
79. Shiloh Y, Kastan M B. ATM: genome stability, neuronal development, and cancer cross paths. *Adv Cancer Res* 2001; 83: 209-54.
80. Marusyk A, DeGregori J. Building a better model of cancer. *Cell Division* 2006; 1: 24.
81. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instability in colorectal cancers. *Nature* 1997; 386: 623-7.
82. Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 1998; 396: 643-9.
83. Hanks S, Coleman K, Reid S, Plaja A, Firth H, Fitzpatrick D, Kidd A, Mehes K, Nash R, Robin N, Shannon N, Tolmie J, Swansbury J, Irrthum A, Douglas J, Rahman N. Constitutional aneuploidy and cancer predisposition caused by biallelic mutations in BUB1B. *Nat Genet* 2004; 36: 1159-61.
84. Carmena M, Earnshaw WC. The cellular geography of aurora kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; 4: 842-54.
85. Keen N, Taylor S. Aurora-kinase inhibitors as anticancer agents. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 927-36.
86. Kanda AH, Kawai H, Suto S, Kitajima S, Sato S, Takata T, Tatsuka M. Aurora-B/AIM-1 kinase activity is involved in Ras-mediated cell transformation. *Oncogene* 2005; 24: 7266-72.
87. Tatsuka M, Sato S, Kitajima S, et al. Overexpression of Aurora-A potentiates HRAS-mediated oncogenic transformation and is implicated in oral carcinogenesis. *Oncogene* 2005; 24: 1122-27.
88. Pihan GA, Purohit A, Wallace J, Knecht H, Woda B, Quesenberry P, Doxsey SJ. Centrosome defects and genetic instability in malignant tumors. *Cancer Res* 1998; 58; 3974-85.
89. Yang J, Ikezoe T, Nishioka C, Tasaka T, Taniguchi A, Kuwayama Y, Komatsu N, Bandobashi K, Togitani K, Koeffler HP, Taguchi H, Yokoyama A. AZD1152, a novel and selective aurora B kinase inhibitor, induces growth arrest. *Blood* 2007; 110: 2034-40.
90. Golias C, Charalabopoulos A, Charalabopoulos K. Cell proliferation and cell cycle control: a mini review. *Int J Clin Pract* 2004; 58: 1134-41.
91. Hattori H, Kuroda M, Ishida T, Shimura K, Nagai S, Mukai K, et al. Human DNA damage check points and their relevance to soft tissue sarcoma. *Pathol Int* 2004; 54: 26-31.
92. Blegen H, Einhorn N, Sjøvall K, Roschke A, Ghadimi B, McShane L, et al. Prognostic significance of cell cycle proteins and genomic instability in borderline, early and advanced stage ovarian carcinomas. *Int J Gynecol Cancer* 2000; 10: 477-87.
93. Tse AN, Carvajal R, Schwartz GK. Targeting checkpoint kinase 1 in cancer therapeutics. *Clin Cancer Res* 2007; 13(7): 1955-9.
94. Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature* 2004; 432: 316-23.

YAZIŞMA ADRESİ

Yrd. Doç Hülya CABADAK
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik AD,
İSTANBUL, TÜRKİYE

Telefon : 0216 3480585
Faks : 02163480585
E-Posta : hcabadak@yahoo.com

Geliş Tarihi : 06.12.2007
Kabul Tarihi : 24.07.2008