

Glioblastoma tümörlerinde çoklu ilaç direnci

Emir Bozkurt, Harika Atmaca, Selim Uzunoglu

Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa

Merkezi sinir sisteminin gerek yapı ve fonksiyonunu gerekse patolojisini hücresele düzeyde anlamada nöronal ve glial paradigma olmak üzere iki yaklaşım öne çıkmaktadır. Nöronal paradigma nöronları, glial paradigma ise glia hücrelerini vurgulayarak patolojiyi açıklamakta ve anlamlandırmaktadır. Beyin tümörlerinin en yaygın türlerinden biri olan glioblastoma, konumu, sağ kalım süresinin kısalığı ve ilacın hedef dokuya ulaşabilirliğinin zorluğu noktalarından özgün bir tümördür. Glioblastomalarda kemoterapötik tedavide gözlenen ilaç direnci, diğer tümörlerde gözlenen direnç mekanizmalarıyla uyumludur. Bu direnç mekanizmaları, tümör hücrelerinin ilaca hassasiyetini azaltan (kan beyin bariyeri ve membran transport proteinlerine bağlı olarak hücre içine ilaç girişinin azalması, DNA tamir sistemlerindeki adaptif cevap ve hedef molekülün ilaca bağlanma etkinliğinin azaltılması) ve ilaçların hedef dokudaki etkin konsantrasyonunu azaltan mekanizmalar (detoksifikasyonda rol alan proteinlerdeki değişimler, tümör mikroçevresinde meydana gelen hipoksik bölgeler) olmak üzere iki alt başlıkta incelenebilir. Ayrıca, onkogenlerin aktivasyonu ve apoptozisle ilişkili Bcl-2 ailesi proteinlerinin ifadesindeki düzensizliklerin de ilaç direncinin ortaya çıkışında rol aldığı bilinmektedir. Bu derlemede glioblastoma tümörlerinde görülen çoklu ilaç direncinin olası mekanizmalarını güncel literatür ışığında tanımlanarak sistemik ve bütüncül bir bakış açısı ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Anahtar sözcükler: Glioblastoma, çoklu ilaç direnci, kan beyin bariyeri, membran transport proteinleri, O-6 metilguanin DNA metiltransferaz, reseptör tirozin kinazlar

Multiple drug resistance in glioblastoma

In cellular perspective, neuronal and glial paradigms are two prevailing approaches for understanding both structure/function and pathology of central nervous system. Neuronal paradigm explains brain pathology mainly based on neurons, while glial paradigm put more emphasize to glial cells. Glioblastoma, one of the most common brain tumors, is unique due to its location, the shortness of median survival and the difficulty of efficient uptake in target tissue. Drug resistance mechanisms observed in the chemotherapy of glioblastoma are quite similar to the ones of other tumor types. These mechanisms can be investigated under two main groups: one is decreasing the sensitivity of tumor cells to chemotherapeutic agents (decreasing of drug uptake into cell by blood brain barrier and membrane transport proteins) and the other one is reducing the efficient concentration of the drug in target tissue (variabilities in detoxification proteins and hypoxia in the tumor microenvironment). Moreover, activation of oncogenes and abnormalities of expression of Bcl-2 protein family members are mediating players in the development of drug resistance in glioblastoma. In this review, the possible drug resistance mechanisms in glioblastoma were described in the light of recent literature by using systemic and integrative perspective.

Keywords: Glioblastoma, multiple drug resistance, blood brain barrier, membrane transport proteins, O-6 methylguanine DNA methyltransferase, receptor tyrosine kinases

Giriş

Merkezi sinir sisteminin (MSS) yapı ve fonksiyonunu hücresele düzeyde anlamada, iki paradigma öne çıkmaktadır. Bunlardan birincisi; enformasyonun tamamen nöronların üzerinden aktığı ve sinirsel fonksiyonların nöronlar arası etkileşim ile düzenlendiği, glia hücrelerinin ise nöronlara

Yazışma Adresi:

Selim Uzunoglu
Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü,
Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa

E-posta: selim@bayar.edu.tr

besin ve destek sağladığını belirten “nöron paradigması”dır. Son yirmi yıldır kabul görmeye başlayan ve öne çıkan ikinci paradigma ise, glia hücrelerinin düşünülenden daha önemli olduğunu, nöronlarla sürekli dinamik etkileşim içinde olduklarını, nöronal metabolizmayı ve nöronlar arası iletişimi düzenledikleri, sinirsel fonksiyonların nöron-glia etkileşimleriyle oluşturulduğunu öne süren, glia hücrelerini beyin tamamlayıcı hücreleri olarak tanımlayan “glia paradigması”dır. Glia paradigmasına göre, MSS de nöronların çevresinde bulunan ve onlara destek sağlayan glia (nöroglia) hücreleri görev ve morfolojik özelliklerine göre astrositler, oligodendrositler, mikrogliya ve ependim hücreleri olmak üzere dört grupta incelenir.

Sayca en fazla (glial hücrelerin ~%80'i) ve yıldız şekilleriyle karakterize olan astrositlerin birincil fonksiyonu, nöronlara besin ve destek sağlamaktır (1). Son yıllarda yapılan araştırmalar astrositlerin yeni sinir hücrelerinin üretimi, sinaptogenezin düzenlenmesi, sinapsların kontrolü, kan-beyin bariyerinin oluşturulması, hücrelerarası matrikste iyon dengesinin sağlanması, hafıza ve bilincin ortaya çıkması gibi önemli hücrel aktivitelere görev aldıklarını göstermektedir (2).

Aksonların etrafını çevreleyen oligodendrositler, glia hücrelerinin ~%5'ini oluşturur. Bu hücreler aksonu saran ve uyarının daha verimli iletilmesini sağlayan miyelin kılıfın oluşumunda önemli rol oynar (3).

Glia hücrelerinin ~%10-15'ini oluşturan mikroglialar; monosit kökenlidir ve fagositoz yapabilme özellikleri vardır. İmmün sistem hücrelerinde olduğu gibi, enfeksiyonlarda veya beyin dokusu zarar gördüğünde sayıları artar (4).

Ependim hücreleri, glia hücrelerinin ~%5'ini oluşturur. Beyin omurilik sıvısının (BOS) üretiminde rol alırlar. Ayrıca yüzeylerindeki siller vasıtasıyla BOS'un akışkanlığını sağlarlar. Bu hücreler, beyinde oluşabilecek toksinlerin ve olası zararlı maddelerin uzaklaştırılmasında görevlidirler (2, 5).

Embriyolojik dönemde bölünebilme özelliğinde olan nöronlar, farklılaşma sonrası hücre döngüsünün G0 fazında tutuklu kaldıklarından mitotik özelliklerini kaybederler ve bu nedenle bölünemez hale gelirler. MSS'deki nöronal kök hücreler ise bu potansiyellerini korurlar. Bir hipoteze göre; uygun farklılaşma faktörleri varlığında nöronal kök hücrelerden yeni nöron ve glial kök hücreler oluşabilmektedir (6). Glia hücreleri ise nöronların aksine yaşam boyu mitotik özelliklerini koruyabilirler (7).

Glia hücreleri, nöronlara kıyasla metabolik olarak daha aktif olduklarından onkogenlerin aktivasyonu, tümör basıklayıcı genlerin inaktivasyonu, apoptotik mekanizmaların engellenmesi ve DNA tamir genlerindeki bozukluklar gibi kanserleşme faktörlerine daha duyarlıdırlar.

MSS tümörleri içinde glioblastomalar %49'luk görülme sıklığıyla ilk sırada yer alır. Bu tümörlerin tedavisi için uzun yıllardır yoğun araştırmalar yapılmasına rağmen, hastaların ortalama sağkalım süresi 12 aydan azdır (2).

Glioblastomalar için en geniş kabul gören sınıflandırma; kanserleşen hücrenin kökeni, evresi ve glioblastomanın konumu referans alınarak yapılır. Kanserleşen hücrenin kökenine göre; ependimoma (ependimal hücrelerden köken alan), astrositoma (astrostitlerden köken alan), oligodendrositoma (oligodendrositlerden köken alan) ve karışık glioblastomalar (farklı glia hücre tiplerinin karışımından köken alanlar) olarak sınıflandırılır. Glioblastomanın ilerleme evresini tanımlamada; hücrel yoğunluğun artması,

nükleer atipiler, hücrelerin mitotik durumları ve çoğalma özellikleri göz önünde bulundurulur. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasına göre glioblastomalar dört evrede incelenir. Evre I ve II' de hastalık çok ilerlememiş ve normal dokudan ayırt edilebilirken; evre III ve IV' te artan maligniteyle birlikte normal dokudan ayırt edilemeyen bir morfoloji gözlenir. Glioblastomalar beyin zarının (tentorium) altında veya üstünde oluş konumuna göre ise "supratentorial" ve "infratentorial" olmak üzere iki gruba ayrılır (2).

Glioblastoma tedavisindeki kabul gören tedavi biçimi sırasıyla, cerrahi yöntem, radyasyon tedavisi ve kemoterapidir. Glioblastomanın konumu dolayısıyla cerrahi yöntemle tümoral dokunun tamamı uzaklaştırılmamaktadır. Bu da tedavi sonrası kanserin nüks etmesine yol açmaktadır. Ayrıca kemoterapi süresince kanser hücreleri çoklu ilaç direnci kazandığından tekrar eden glioblastomaların tedavisi daha da zorlaşmaktadır (8).

Glioblastoma Tedavisinde İlaç Direnci ve Olası Moleküller Mekanizmalar

Glioblastomada kemoterapötik ilaçların etkinliğini kısıtlayan en önemli faktörler; ilaçların hedef dokudaki etkin konsantrasyonunun azalması tümör hücrelerinin ilaca hassasiyetinin azalması ve strese bağlı seçim sonucunda gelişen doğal veya kazanılmış ilaç direncidir. Doğal direnç; ilk kez alınan bir kemoterapötik ilaca karşı tümörün çok az cevap vermesi ya da hiç cevap vermemesidir. Kazanılmış ilaç direnci ise, başta ilaca cevap veren tümörlerin belli bir süre sonra ilaca cevap vermez hale gelmesi ile oluşur.

Glioblastomalarda kemoterapötik tedavide gözlenen ilaç direnci diğer tümörlerde gözlenen direnç mekanizmalarıyla uyumludur. Bu direnç mekanizmaları, tümör hücrelerinin ilaca hassasiyetini azaltan ve ilaçların hedef dokudaki etkin konsantrasyonunu azaltan mekanizmalar olmak üzere iki alt başlıkta incelenebilir.

A) Tümör hücrelerinin ilaca hassasiyetini azaltan mekanizmalar

1. a. Beyni periferel dolaşımdan ayıran MSS'deki doğal savunma mekanizması; kan beyin bariyeri (KBB),
b. Membran transport proteinlerini kodlayan genlerin ifadesinde artışa bağlı olarak hücre içine ilaç girişinin azalması,
2. Artan ilaca bağlı olarak DNA tamir sistemlerindeki adaptif cevap,
3. İlacın hedef molekülünde mutasyonlara veya posttranslasyonel modifikasyonlara bağlı olarak, hedef molekülün ilaca bağlanma etkinliğinin azaltılması,

B) İlaçların hedef dokudaki etkin konsantrasyonunu azaltan mekanizmalar

1. Detoksifikasyonda rol alan proteinlerdeki değişimler,
2. Tümör mikroçevresinde meydana gelen hipoksik bölgeler.

C) Glioblastomada kemoterapötiklere karşı dirence zemin hazırlayan diğer olası mekanizmalar ve ilişkili moleküller

1. Onkogenlerin aktivasyonu,
 2. Bcl-2 ailesi proteinlerinin ifadesindeki bozukluklar
 3. Kök hücrenin olası rolü,
- olarak sıralanabilir (Şekil 1).

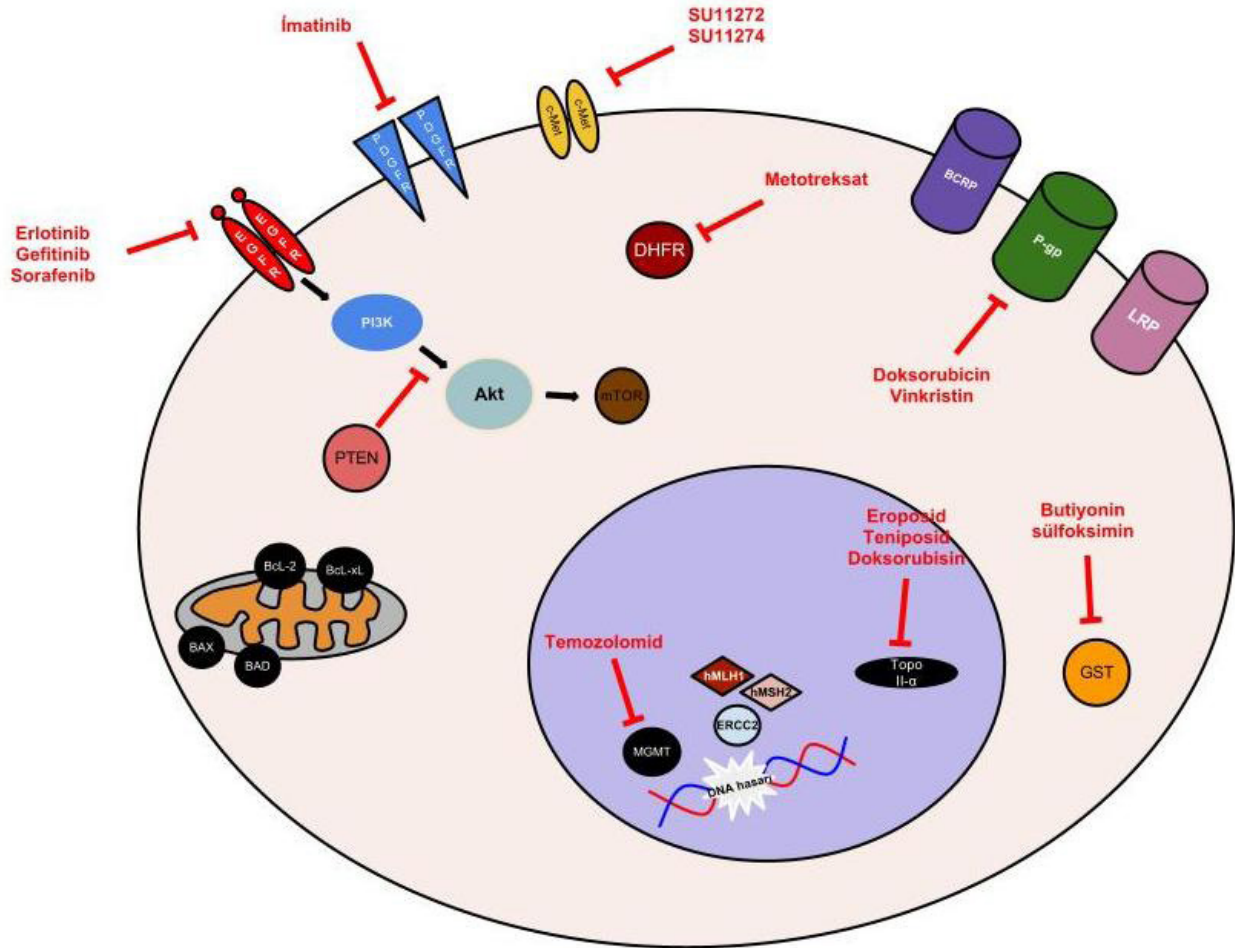
A) Tümör hücrelerinin ilaca hassasiyetini azaltan mekanizmalar

1a. Kan beyin bariyeri (KBB)

Glioblastomalarda hücresel seviyede ilaç direncine yol açan temel yapı ve mekanizmalardan biri kan beyin bariyeridir. KBB'deki kılcal damarlarda hücre içine madde geçişi yolla kontrol edilir.

Birincisi, endotelial hücreler arası bağlantı moleküllerinin oluşturduğu fiziksel bariyer veya geçirgenliktir. Hücreler arası madde geçişi, bağlantı moleküllerinin izin verdiği ölçüde gerçekleşir. İkincisi, endotelial hücrelerin hücre zarına yerleşmiş olan taşıyıcı proteinlerin veya enzimatik pompaların aktivite derecesiyle kontrol edilir (9).

Şekil 1: Glioblastomada kemoterapötik ajanlara karşı direnç gelişiminde rol alan moleküllerin şematik gösterimi.



EGFR: Epidermal çoğalma faktörü reseptörü; PI3K: Fosfatidilinositol-3-kinaz; PTEN: Fosfotaz ve tensin homologu; Akt: Protein kinaz B; mTOR: Rapamisin hedef proteini 1; PDGFR: Trombosit kaynaklı çoğalma faktörü reseptörü; c-MET: Proto-onkogen c-MET; DHFR: Dihidrofolat redüktaz; BCRP: Meme kanseri direnç proteini; P-gp: P glikoprotein; LRP: Akciğer direnç proteini; GST: Glutasyon s transferaz; MGMT: O-6-metilguanin DNA metiltransferaz; hMLH1: mutL protein homolog 1; hMSH2: mutL protein homolog 2; ERCC2: Xeroderma pigmentosum grup D; Topo II-α: Topoizomeraz IIα; Bcl-2: B-hücreli lenfoma 2; BAX: Bcl-2 benzeri protein; BAD: Bcl-2 benzeri protein 8, Bcl-XL: Bcl-2 benzeri protein 1.

Kan beyin bariyerini oluşturan bu moleküler mekanizmalar, ilaçların beyin dokularına geçişini kısıtlar, dolayısıyla bariyeri geçen ilacın beyin hücrelerine etkin dozda ulaşması yavaşlar veya engellenir.

Glioblastomalarda kemoterapötik ajanlar, tümörün odak noktasına etkin dozda ulaşabilirken, tümörün çevresine eşit olarak dağılmamaktadır. Çünkü tümörün merkezinde KBB bozulurken, çevredeki hücrelerde KBB sağlam ve etkindir. Ameliyatla uzaklaştırılan ana kitlenin bulunduğu bölgedeki hücreler tedaviye iyi cevap verirken, bozulan KBB dolayısıyla invaze olmuş glioblastoma hücrelerine yeterince ilaç ulaşmamakta ve dolayısıyla cerrahi sonrası kemoterapide direnç problemiyle karşılaşmaktadır. 2006 yılında yapılan ve bu olası mekanizmayı doğrulayan bir çalışmada, glioblastoma hastalarının beyin dokusundaki paklitaksel düzeyleri ölçülmüş ve normal beyin hücrelerinde glioblastoma hücrelerine oranla 10 kat daha fazla ilaç birikimi olduğu bulunmuştur (5). Dolayısıyla, glioblastomalardaki doğal direncin önemli sebeplerinden biri KBB ve tümörün beyindeki lokalizasyonudur denilebilir (10).

1b. Membran transport proteinlerini kodlayan genlerin ifadesindeki artışa bağlı olarak hücre içine ilaç girişinin azalması

KBB'deki kılcal damarlarda hücre içine madde geçişi ile ilişkili ikinci mekanizma ise, ilaçların hücre membranından geçişini düzenleyen taşıyıcı proteinlerin aktivasyon düzeyleridir. Çoklu ilaç direnciyle ilişkili olduğu saptanan proteinlerin büyük kısmı, ATP bağımlı proteinler grubundan olan "ATP-bağımlı kaset (ABC) taşıyıcı" protein ailesinin üyeleridir. Bu proteinler; P-glikoproteini (P-gp), çoklu ilaç direnciyle ilişkili protein (MRP) ve meme kanseri direnç proteini (BCRP) dir. ATP bağımsız proteinlerden olan akciğer direnç proteininin (LRP/MVP) de glioblastomalarda çoklu ilaç direncine neden olduğu gösterilmiştir (8,11,12).

P-glikoprotein (MDR1/ABCB1)

ABC ailesinin üyesi olan P-gp, ABCB1 geni tarafından kodlanan ve hücre membranında lokalize olmuş 170 kDa'lık bir proteindir. İlaç direnci araştırmalarında en sık incelenen proteinlerden olan P-gp, hücre içi ilaç miktarını azalttığı gibi, ilaçların hücreden çıkışını da artırarak iki yönlü çalışan bir pompa görevi görür. ABCB1 genin transkripsiyonunu anti-tümöral ajanlara maruziyet, tümör baskılayıcı p53 genindeki mutasyonlar, Raf proteinin aktivasyonu gibi faktörlerin arttırdığı gösterilmiştir (8,13).

Yapılan çalışmalarla, P-gp'nin KBB'deki kılcal damar endotel hücrelerinde sentezlendiği ve ilaçların beyin hücrelerine giriş/çıkışında rol oynadığından dolayı ilaç direnci gelişiminde etkili olduğu tespit edilmiştir (14,15). İleri evreli ve malign glioblastomalarda P-gp'nin aşırı miktarda, erken evreli astrositomlarda ise az miktarda sentezlendiği

gösterilmiştir (16). Benzer şekilde P-gp proteininin artan ve azalan düzeylerinin glioblastomaların prognozu ile ilişkili olduğuna dair çalışmalar vardır (8,13). Glioblastomalarda gözlenen doksorubisin ve vincristine dirençte P-gp proteinin rol oynadığı gösterilmiştir (17). Ayrıca, glioblastoma tümörlerinin tedavisinde sıklıkla kullanılan ajanlardan olan erlotinibin hücreye alınımının, P-gp ve BCRP1 proteinlerinin aşırı ekspresyonu nedeniyle engellendiği belirlenmiştir (18).

Primer ve metastatik glioblastomalı hastalardan kemoterapi öncesi ve sonrası alınan biyopsi örneklerinde P-gp düzeyleri karşılaştırıldığında, kemoterapi sonrası örneklerdeki P-gp miktarının anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. Bu artış, P-gp'nin glioblastomalarda hem doğal hem de kazanılmış ilaç direncinde rolü olduğu şeklinde yorumlanmıştır (19).

Meme Kanseri Direnç Proteini (BCRP/ABCG2)

Meme kanseri direnç proteini (BCRP), ilaç dirençli meme kanseri hücre hattı olan MCF-7/AdrVp'den izole edildiği için bu ismi almıştır, daha sonra ABC protein ailesinden olduğu belirlenmiş ve ABCG2 olarak isimlendirilmiştir (20).

ABCG2'nin hem endotelial beyin damarlarında hem de glioblastoma hücrelerinde sentezlenmesi, normal beyin fonksiyonlarının sürdürülmesinin yanında ilaçların beyne taşımını düzenleyerek glioblastoma tedavisinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir (21).

BCRP'nin KBB'deki hücrelerde sentezlendiği ve ilacın hücre içi konsantrasyonunu azaltarak ilaç direncine neden olduğu tespit edilmiştir (22). ABCG2 geni susturulmuş farelerde, kemoterapötik ajanların ve antibiyotiklerin beyin hücrelerine alınımının önemli oranda arttığı ve ABCG2'nin P-gp ile birlikte çalışarak, topotekanı beyin dokusundan uzaklaştırdığı gösterilmiştir (23). Fareler üzerinde erlotinib'in beyin dokusuna penetrasyonunu engelleyen proteinleri araştıran iki gruptan biri, ABCG2'nin erlotinib ve metabolitlerinin beyin dokusuna penetrasyonunu engelleyen temel transport protein olduğu belirlenmiştir (24). Diğer grup araştırmacı ise, hem ABCG2 hem de P-gp proteininin bu süreçte önemli olduğunu, hatta P-gp'nin daha etkin rol aldığını göstermişlerdir (25).

Çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda P-gp ve ABCG2'nin sinerjistik bir şekilde sorafenib, gefitinib, flavopiridol, imatinib, prazosin gibi ilaçların beyin hücrelerine penetrasyonunu engellediği gösterilmiştir (26-28).

Çoklu İlaç Direnciyle İlişkili Protein (MRP/ABCC)

ABCC proteinleri işlev bakımından P-gp proteinlerine benzer. ABCC genleri, moleküler ağırlıkları 180-195 kDa arasında olan; yapı, membran lokasyonu, substrat özgüllüğü ve afinitesi açısından farklılık gösteren 9 farklı prote-

ini (ABCC1-9) kodlar (13,29).

Beyin tümörlerinde, bilhassa glioblastomalarda, ABCC geninin aşırı ifadesinin çoklu ilaç direnciyle bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (20). P-gp proteininin sentezlenmediği kanser hücrelerinde ABCC proteinlerinin yüksek miktarda sentezlendiği gösterilmiştir (30). Abe ve arkadaşlarının insan glioblastoma hücre kültürlerinde yaptığı bir çalışmada, ABCC mRNA düzeyleriyle, vinkristin ve etoposid kemoterapötik ajanlarına karşı gelişen direnç arasında korelasyon tespit edilmiştir (31). ABCC2 ve ABCC3'ün ise doksorubisin, epirubisin, vinkristin, vinblastin ve etoposid gibi kemoterapötik ilaçlara karşı gelişen ilaç direncinde rol aldığı gösterilmiştir (32). ABCC4 geni susturulmuş farelerde yapılan çalışmalarda, topotekan'ın beyin hücrelerine alınımında artış tespit edilmiştir (33). Ayrıca farklı evrelerdeki glioblastomalı hastalardan alınan dokularında yapılan diğer bir çalışmada, farklı evrelerdeki gliomlarda ABCC1 mRNA düzeylerinin de farklılaştığı gösterilmiştir. Bu düzeylerin normal beyin dokularında en az olmasına karşın, ileri evredeki malign glioblastomalarda en üst seviyede olduğu tespit edilmiştir (34-36).

Diğer ABCC tiplerinin de glioblastomalarda ilaç direncinde oynadığı rollerin detaylı olarak ortaya koyulabilmesi için yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Akciğer Direnç Proteinini (LRP/MVP)

LRP'nin varlığı ilk defa; ABCB1 negatif, çoklu ilaç direncine sahip akciğer dokusu kanser hücrelerinin nükleus zarında gösterilmiştir. ATP'den bağımsız taşıyıcı protein ailesinin bir üyesi olan LRP, 13 megadaltonluk bir ribonukleotittir ve nükleositol plazmik taşımadan sorumludur. DNA'yı hedef alan kemoterapötiklere karşı hücreyi koruyan LRP, P-gp mekanizmasına benzer şekilde ilaçların hücre içi birikimini azaltır (21,37).

LRP glial hücrelerde sentez edilmezken, glioblastomalarda ve astrositik beyin tümörlerinde aşırı sentez edilen bir proteindir (2,38,39).

On üç glioblastoma hücre hattı ve glioblastomalardan elde edilen primer hücrelerde LRP ekspresyon seviyesinin normal insan astrosit hücrelerine göre çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir (39). Tews ve ark, 27 primer glioblastoma ve astrositom orijinli 17 sekonder glioblastoma örneklerinde LRP geninin kontrol grubuna göre aşırı ifade edildiğini tespit etmişlerdir (37). LRP ekspresyonunun glioblastomalar için prognostik marker olabileceğini gösteren klinik çalışmalar ise yetersizdir.

2. DNA tamir sistemlerindeki adaptif cevap

Glioblastoma tümörlerinin tedavisinde alkilleyici ajanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. DNA'daki bazlara eklenti oluşturan bu ajanlar, normal şartlarda hücrenin DNA tamir enzimleri ile uzaklaştırılır. DNA tamir mekanizmaları

özellikle sisplatin ve diğer alkilleyici ilaçlara karşı gelişen ilaç direncinde önemli rol oynamaktadır.

O6-Metilguanin DNA metiltransferaz (MGMT)

MGMT aktivitesinin kaybolması, glioblastomalarda malignite ile ilişkili sık gözlenen (%50) bir durumdur. O6-metilguanin DNA metiltransferaz (MGMT), guanine bağlı promutajenik alkil gruplarını kendi sistein akseptör bölgesine transfer ederek guanine oluşabilecek mutasyonları engelleyen bir DNA tamir enzimidir. MGMT enzim aktivitesinde artış olduğunda ilaç direnci geliştiği gözlenmiştir. Alkil grubunun transferi sonrasında MGMT'nin aktif bölgesi yenilenemez ve proteinin alkilenmesi sonucu ubiquitinasyon işlemi ile enzim yıkıma uğrar. Bundan dolayı bu mekanizma "intihar mekanizması" olarak da bilinir (40). MGMT bulunmayan hücrelerde O6-metilguanin (O6 MeG) tamiri mümkün olmayacağından, bu hücreler, alkilleyici ajanların mutajenik ve sitotoksik etkilerine daha duyarlıdır. O6 MeG, MGMT tarafından tamir edilmezse kromozomal anomaliler ve nokta mutasyonları gibi durumlar gözlenebilir. Glioblastomalarda O6 MeG, Fas ve p53 bağımlı yollar üzerinden apoptozis indüklemektedir (41).

MGMT'nin glioblastomalarda direnç gelişiminde rol aldığı, glioblastoma hücre hatlarında ve ksenograft modellerinde yapılan çeşitli deneylerle gösterilmiştir (40).

Friedman ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, gliyal tümör hücrelerinin temozolomide duyarlılık düzeyi ile MGMT geni arasında bağlantı olduğu gösterilmiştir. MGMT geni bulunmayan hücrelere transfeksiyon ile bu enzim eklenmiş ve bu yolla temozolomid direnci indüklendiği (42).

Birçok klinik çalışmada glioblastomada MGMT'nin metilasyonu, MGMT ifadesinin düşük olması ya da hiç olmaması, glioblastomanın nitrozo-ürelere (kloroetilnitrozo-üre, BCNU, lomustin ve fotemustin) ve temozolomide karşı daha iyi klinik cevap vermesi ile ilişkilendirilmiştir (43-45). Tagliabue ve arkadaşları, glioblastoma ksenograftlarında karmustine duyarlılığın MGMT ekspresyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. (46).

Yanlış eşleşme Tamir Sistemi (MMR) genleri: hMLH1 ve hMSH2

Yanlış eşleşme tamir sisteminin (MMR) temel görevi, replikasyon sırasında yeni sentezlenen DNA'yı tarayıp, oluşan tek nükleotidlik hatalı eşleşmeleri uzaklaştırmaktır. MMR yetersizliği, genomda DNA tekrar dizilerinin uzunluğunda varyasyonların oluşumuna ve sonuçta genomik kararsızlığın artışına yol açar. MMR genlerinden özellikle insan MutL homolog 1 (hMLH1) ve insan MutS homolog 2 (hMSH2) genlerinde gözlenen kalıtsal hasarlar, akciğer, pankreas, yumurtalık, rahim ağzı, meme ve glioblastoma tümörlerinde belirlenmiştir. hMLH1 ve hMSH2

genlerinden sentezlenen proteinlerin kemoterapötiklere karşı hücrel cevabı düzenlemede anahtar rol oynadığı gösterilmiştir. Burada düşünülen moleküler mekanizma; oluşan DNA hasarının MMR tarafından tanınarak tamir edilmesi, tamir edilmediğinde ise, apoptotik mekanizmaların tetiklenmesiyle çalışır (47).

MMR sistemi olmayan hücre hatları ve ksenograftlarda, DNA'da hasar oluşturan ajanlara, bilhassa sisplatin ve karboplatin'e karşı direnç kazanıldığı gösterilmiştir. Friedman ve arkadaşlarının GBM ksenograftları üzerinde yaptığı bir çalışmada, hMLH1 ve hMSH2 protein düzeylerindeki azalışın, yaygın kullanılan kemoterapötiklere duyarlılığı arttırdığı gösterilmiştir (48). Bu enzimlerin glioblastomalarda ilaç direncine etkisinin moleküler mekanizmalarının araştırılacağı daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

ERCC2 geni (=XPD protein)

Transkripsiyon faktör IIIH (TFIIH)'nin, on alt ünitesinden biri olan XPD (Xeroderma pigmentosum grup D) proteini, RNA polimeraz II tarafından transkripsiyonun başlaması için gerekli olan bir proteindir. TFIIH aynı zamanda, UV radyasyonun ve DNA'ya bağlanan ajanların neden olduğu DNA hasarının tamiri için evrimsel süreçte korunmuş bir tamir yolağı olan nukleotid kesip çıkarma tamir mekanizmasında (NER) da önemli rol oynar.

İnsan glioblastoma hücre hatlarında yapılan çeşitli çalışmalarla ERCC2'nin kloroetilnitroz-üre gibi alkilleyici ajanlara gelişen dirençte rol aldığı gösterilmiştir (49,50). 2011 yılında temozolomid uygulanan 58 malign glioblastoma hastasıyla yapılan bir çalışmada, temozolomide duyarlı hastalarda MGMT ve ERCC2 transkript düzeylerinin, dirençli hastalarla karşılaştırıldığında daha az olduğu tespit edilmiştir (51).

3. Hedef molekülün mutasyonu veya modifikasyonu ile ilacın bağlanma etkinliğinin azalması

Bazı kemoterapötik ajanların etkilediği hücre içi moleküller, hücrenin çoğalması için kritik fonksiyon gören topozomeraz ve dihidrofolat redüktaz gibi enzimlerdir. Bu enzimlerin kodlandığı genlerde meydana gelen mutasyonlar veya sentezlenen proteinlerdeki posttranslasyonel modifikasyonlar, ilacın enzime bağlanmasını azaltacağından, tümör hücreleri ilaca karşı direnç kazanırlar.

Topozomeraz IIα

Topozomerazlar, replikasyon, rekombinasyon ve transkripsiyon olaylarının gerçekleşebilmesi için DNA'daki topolojik değişiklikleri gerçekleştiren enzimlerdir. Bu enzimler, Antrasiklinler (doksorubisin), epipodofilotoksinler (etoposid, teniposid) ve kamptotesinler (topotekan) gibi pek çok kemoterapötik ajanın bağlandığı hedef moleküllerdir. Topozomerazı kodlayan genlerin okunmasındaki veya enzim aktivitesindeki bozukluklar, hücre içi

direnç gelişimine neden olur.

Alkilleyici ve platin ajanlar, normal heliks yapısındaki DNA'ya çapraz şekilde bağlantı yaparak DNA'nın replikasyonunu engellemektedirler. Topozomerazlar tarafından süper heliks forma dönüştüren DNA ise bu ajanlar için uygun bir substrat olmadığından, topozomerazlar dolaylı olarak DNA'yı alkilleyici ajanların hasarından korur. Sonuç olarak, hücrede güçlü bir topozomeraz aktivitesi hem kemoterapötik ajanlara hem de radyasyona karşı direncin gelişmesinde etkili bir faktördür.

Topo IIα'nın yüksek seviyede sentezi, tümör hücrelerinin ilaca karşı hassasiyetini artırır. Kuriyama ve arkadaşları, insan glioblastoma hücre kültürlerinde antisens oligonukleotid muamelesiyle azaltılan Topo IIα sentez düzeylerinin, etoposid ve adriamisin gibi Topo IIα inhibitörlerine karşı direnci arttırdığı gözlenmiştir (52). Etoposid'e dirençli glioblastoma hücre kültürlerinde yapılan bir başka çalışmada, duyarlı hücrelere oranla Topo IIα'nın mRNA düzeylerinde ve aynı zamanda Topo IIα aktivitesinde azalış tespit edilmiştir (53).

Dihidrofolat Redüktaz (DHFR)

Dihidrofolat redüktaz (DHFR), timidilat sentaz'ın katalizlediği deoksiüridinmonofosfatın (dUMP) deoksitimidinmonofosfata (dTMP) dönüşümü reaksiyonunda kofaktör olarak görev yapar. Bu nedenle DNA, RNA ve protein sentezi için gerekli olan önemli bir enzimdir. MSS lenfomalarında ve nüks eden glioblastomalarda yaygın olarak kullanılan metotreksat kemoterapötik ajanının hedefi bu enzimdir (54).

DHFR'nin, hem glioblastoma hücre hatlarında hem de glioblastoma tümörlerinde yüksek düzeyde sentezlendiği tespit edilmiştir (55). Bunun yanında, DHFR'nin düşük evreli glioblastomalar ve ependimomalarda düşük miktarda sentezi, yüksek evreli glioblastomalar ve medulloblastomalarda ise daha fazla sentez edilmesi, DHFR'nin glioblastomaların evreleriyle uyumlu bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

DHFR aktivitesi yüksek olan hücrelerde, metotreksat kemoterapötik ajanına karşı direnç geliştiği tespit edilmiştir. Beyin tümörlerinde DHFR gen amplifikasyonuna dayalı direnç gelişiminin mekanizmalarına dair detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

B) İlaçların hedef dokudaki etkin konsantrasyonunu azaltan mekanizmalar;

1. Detoksifikasyon ile ilişkili hücrel proteinlerdeki değişimler

Glutasyon ve ilişkili enzimler

Glutasyon transferazlar, yaygın olarak kullanılan ismiyle glutasyon s-transferazlar (GST), indirgenmiş glutasyon

(GSH) varlığında, endojen ve ekzojen kaynaklı elektrofilik ve hidrofobik bileşiklere hidrojen transfer ederek, onların suda çözünebilir ve böylelikle daha kolay atılabilen, daha az toksik metabolitlere dönüşümünü katalizleyen Faz-II detoksifikasyon enzim ailesinin üyeleridir (56,57).

İndirgenmiş glutatyonun / okside glutatyon oranı (GSH/GS), hücrenin oksidatif strese karşı savunma sisteminin önemli bir parametresidir. Kemoterapi esnasında biyolojik sistemin detoksifikasyon kapasitesinin zenginleştirilmesi önemlidir. Pek çok ilaç (adriamisin, klorambusil, melfalan gibi), karaciğerde sitokrom p450 ve GST enzim sistemi tarafından modifiye edilerek, yarı ömürleri azaltılır. Bir başka deyişle ilacın metabolizması hızlandırılarak, hedeflenen dokuda yeterli dozda birikmesi engellenir. Sonuçta, tümör hücrelerinin, ilaca karşı direnç kazanması dolaylı olarak kolaylaşmaktadır (58,59). Bu dolaylı direncin oluşumunda; GST enziminin kodlandığı genlerdeki mutasyonlar, hücredeki toplam glutatyon miktarı, GSH/GS oranı gibi faktörlerin tekli ve çoklu etkileşimi önemli rol oynar (13).

İlaçların detoksifikasyonunda anahtar rol oynayan GSH/GS ve GST sisteminin glioblastomalar başta olmak üzere çeşitli beyin tümörlerinde ilaç direncine katkı yaptığı belirlenmiştir. GST enziminin α izoformu ile kemoterapiye cevap arasında ilişki tespit edilmiştir (13).

GST sentezi fazla olan, sisplatin ve 2-kloroetilnitrozoüreye dirençli GBM hücre kültürlerinden izole edilen GST izoformunun 5. ve 6. ekzonlarında transisyon (+1404'deki A --> G ve +2294'deki C --> T), intron 1'de insersiyon (+51 guanin) tespit edilmiştir (60-62).

In vitro insan beyin tümörleri modellerinde glutatyon sentezini inhibe edici (butionin sulfoksimin) ajanlar uygulanarak hücrelerdeki glutatyon miktarları azaltılmış ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Literatürde, insan malign glioblastoma hücre kültürlerinde ve biyopsi örneklerinde karmustin veya platin ajanlarla ilaca duyarlılığın arttırıldığı çalışmalar mevcuttur ancak henüz bu konuda klinik bir çalışma mevcut değildir (13).

2. Tümör mikroçevresinde meydana gelen hipoksik bölgeler

Hızla çoğalan kanser hücreleri için tümörlü dokudaki mevcut kan damarların yetersiz kaldığı durumlarda hipoksi, besin eksikliği ve asidite ile karakteristik bir mikroçevre oluşur. Bu nedenle, tümörün iç kısmında bulunan hücrelerin büyük bir kısmı çoğalmak için uygun çevre koşullarına sahip olamaz. Antikanser ilaçlar tümörün dış çevresindeki hücreleri öldürür ancak iç taraftaki hücreler yaşamaya devam eder ve sonuçta direnç gelişir. Bu direncin en önemli sebebi, bölgenin damarlardan uzak olması nedeniyle ilacın hedefine yeterince ulaşamamasıdır (63).

Hücrelerin hipoksiye adaptasyonunda hipoksi ile indükle-

nen transkripsiyon faktörleri (HIF) rol alır. Bu faktörlerin en çok çalışılan üyesi olan HIF1'in hipoksik koşullarda P-glikoproteinini kodlayan MDR1 gen transkripsiyonunu aktive ettiği belirlenmiştir (64,65). HIF-1'in glioblastomalar da dahil pek çok kanser hücresinde aşırı ifade edildiği tespit edilmiştir.

HIF1 ile indüklenen MDR1 ekspresyonunun, glioblastomalarda bilhassa T98G insan glioblastoma hücrelerinde etoposid ve doksorubisine dirençte etkili olduğu gösterilmiştir. Glioblastomalarda sıklıkla kullanılan trastuzumab'ın da HIF1'i inhibe ettiği saptanmıştır (66,67).

C) Glioblastomada kemoterapötiklere karşı dirence zemin hazırlayan diğer olası mekanizmalar ve ilişkili moleküller

1. Onkogenlerin aktivasyonu

Reseptör Tirozin Kinazların (RTK) Aşırı Ekspresyonu

Protein Tirozin Kinazlar (PTK), sadece metazoanlarda bulunan büyük ve polimorfik bir gen ailesidir. Reseptör tirozin kinazlar (RTK) ise, hücre membranda yerleşmiş olan yüksek afiniteli PTK'lardır (68). Bu proteinler, sinyal iletimine bağlı çoğalma, farklılaşma, adhezyon, motilite ve hücre ölümü gibi organizma için kritik önem taşıyan süreçlerde önemli rol oynarlar.

Glioblastoma tümörlerinin dikkat çeken karakteristik özelliği, Epidermal Çoğalma Faktörü (EGF) ile Trombosit Kaynaklı Çoğalma Faktörlerinin (PDGF) ve reseptörlerinin aşırı ifade edilmesidir. Bu nedenle, glioblastoma tedavisinde en sık kullanılan stratejilerden birisi, tümör hücrelerinde aktivasyonu artmış olan bu sinyal yollarının Tirozin Kinaz İnhibitörleri (TKI) kullanılarak inhibe edilmesidir.

Epidermal Çoğalma Faktörü Reseptörü (EGFR), Tirozin Kinaz (TK) reseptörlerinin erbB ailesine ait bir transmembran proteindir. Ligandının EGFR'ye bağlanması sonucu, RTK'nin otofosforilasyonu gerçekleşir. Fosforile olmuş RTK, hücrenin yaşamını sürdürmesinde, proliferasyonunda ve farklılaşmasında rol alan sinyal yollarını aktive eder (42). Örneğin; glioblastomalarda fosforile RTK, glikolitik aktiviteyi arttırıcı genleri [glikoz taşıyıcı 1 (GLUT1)] ve onkogenleri aktive ederken, tümör baskılayıcı genlerin inhibisyonuna yol açar (69).

Glioblastomalarda EGFR geni, en sık (%40) mutasyona uğrayan tirozin kinaz reseptör genlerinden biridir (70). Glioblastoma multiforme (GBM)'de, EGFR ve/veya onun aktive olmuş varyantı EGFRvIII'ün aşırı ifadesinin, glial tümörlerin daha invazif ve tedaviye daha dirençli olmasına yol açtığı gösterilmiştir (71). Malign melanomlarda, EGFR genindeki mutasyonların, Bcl-XL proteininin ekspresyon düzeyinin arttırarak apoptozisin engellenmesine yol açtığı gösterilmiştir. Glioblastoma hücrelerinde sisp-

tin başta olmak üzere çeşitli kemotöropötiklere karşı direnç gelişiminde bu mutasyonların rolü olduğu belirlenmiştir (72).

Yapılan araştırmalarda EGFR sinyal yolağı ile ilişkili genlerdeki mutasyon durumları araştırılmıştır. Glioblastomalarda tümör baskılayıcı bir gen olan PTEN'in ürünü, Akt ve mTOR proteinlerini defosforile eden bir fosfatazdır. PTEN'in mutasyona uğraması sonucu, Akt ve mTOR proteinleri fosforile durumda kalır. Bunun anlamı hücrede çoğalma sinyallerinin süreklilik arz etmesidir (71). Haas-Kogan ve ark.'nın 41 glioblastoma hastasıyla yaptığı çalışmada yüksek EGFR ve düşük Akt düzeylerine sahip bireylerin erlotinib ile tedaviye daha iyi cevap verdiği gösterilmiştir (73). Seksen iki malign glioblastoma hastasının erlotinib ile tedavi edildiği klinik bir çalışmada, EGFRvIII ve PTEN ifade düzeyleri araştırılmış, her iki genin birlikte sentezlendiği hastalarda erlotinibe cevabın daha iyi olduğu belirlenmiştir. GBM hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmıştır (74). Ancak bu iki molekül arasında korelasyonun tespit edilemediği çalışmalar da mevcuttur (75). Bu çelişkili veriler, EGFR inhibitörlerine karşı gelişen dirençte başka moleküllerin de rol oynadığını düşündürmektedir (71).

EGFR / EGFRvIII ün, c-met ve PDGFR gibi diğer TK'ları aktive ederek tümör gelişimine katkı sağladığı bilinmektedir (71, 76-78). C-met, RTK'ların bir üyesidir ve bilinen tek ligandı hepatosit çoğalma faktörüdür (HGF). Aynı zamanda EGFR/EGFRvIII ile birlikte sentezlendikleri bilinmektedir (77,79). Bir çalışmada, HGF varlığında, hücrede EGFR ligandının sentezi artmaktadır. Artan ligand, EGFR'nin aktivasyonunu tetiklemektedir (71). Hücrede HGF yokluğunda ise, EGF'nin ligandı yerine reseptörünün, c-met ile birlikte sentez edildiği gösterilmiştir. C-met ve EGFR nin birlikte sentezlendiği glioblastoma hücre hatlarında erlotinib, c-met inhibitörü (SU11272) ile kombine edildiğinde, hücre çoğalmasının yüksek oranda engellendiği gösterilmiştir (71). PTEN(-)/HGF(+)/c-Met(+)/EGFRvIII(+) U-87MG GBM ksenograflarında HGF'nin, monoklonal antikor kullanılarak etkisiz hale getirildiği bir çalışmada erlotinib ile sinerjistik etki elde edilerek tümör gelişiminin önlediği gösterilmiştir (77).

Glioblastoma tedavisinde, EGFR inhibitörlerine karşı gelişen direnç mekanizmalarında c-met ve PDGFR'nin de birlikte sentezlendiği bulunmuştur (78,79). Stommel ve arkadaşları; GBM hücre kültürlerinde erlotinib, SU11274 (c-met inhibitörü) ve imatinib'i (Gleevec, abl-PDGFR inhibitörü) birlikte kullandıklarında, tekli ve ikili kullanımlara kıyasla daha fazla sitotoksiste gözlemişlerdir (78).

2. Bcl-2 protein ailesi

Kemoterapötik ilaçlara karşı gelişen çoklu ilaç direncinde apoptotik hücre ölümünü engelleyici faktörlerin de etkili rol oynadığı tespit edilmiştir (80). Apoptozis'in düzenlen-

mesinde anti-apoptotik Bcl-2 protein ailesi üyeleri BCL-2 ve BCL-XL ile birlikte BAX ve BAD gibi pro-apoptotik üyeler de rol alır. Bcl-2 gen ifadesi fazla olan düşük evreli astrositomlarda, akut myelojen lösemi ve kronik limfositik lösemilerde tedaviye cevabın düşük olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (81-83).

Bcl-2 protein ailesi üyelerinin ifadesindeki artış ya da azalışların hem radyoterapiye hem de kemoterapiye karşı gelişen dirençte etkili olduğuna dair çeşitli çalışmalar vardır (84-87).

Malign glioblastoma hücrelerindeki Bcl-2 protein düzeylerinin, sitotoksik Fas antikorlarına karşı direnç gelişiminde belirleyici bir etken olduğu tespit edilmiştir (87).

Düşük dozlarda taksole maruz bırakılan insan glioblastoma hücrelerinde, siRNA kullanılarak Bcl-2 geni susturulduğunda apoptozisin %70 oranında arttırdığı belirlenmiştir (84). Bcl-2 geni susturulmuş glioblastoma tümörlü farelerde, taksol tedavisinin tümör büyümesini ve anjiyogenezi büyük ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir (85). Bcl-2 gen ifadesinin çeşitli *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda tümör oluşumunda rol aldığı gösterilmesine rağmen; Bcl-2 geninin ifade düzeyleriyle tümör oluşumu arasında anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır (8, 88, 89).

3. Glioblastoma direncinde kök hücrenin olası rolü

Glioblastoma tümör dokusu içerisinde kök hücre karakteristiğine sahip hücrelerin bulunduğu dair yayınlara son yıllarda daha sık rastlanmaktadır. Glioblastoma kök hücreleri (GKH) olarak isimlendirilen bu hücreler, primer glioma biyopsi örneklerinden izole edilip *in vitro* ortamda uygun koşullarda çoğaltılabilmektedir. GKH başlıca hücre yüzeyinde prominin (CD133), Lewis X (LeX, SSEA-1) ve L1 hücre adezyon molekülü (L1CAM); hücre içerisinde ise nestin, SOX2 transkripsiyon faktörü, polycomb grubu protein Bmi1, zeste homolog proteini 2 (Ezh2), ve/veya oligodendrosit transkripsiyon faktörü 2 (Olig2) moleküllerini farklı kombinasyonlarda bulundururken, karakteristik tek bir belirteç molekül bulunmamaktadır (11, 90). GKH'lerin dinamik düzenleme gösteren protein biyobelirteçlerinin glioblastoma tümörlerinin gelişim evrelerine göre tanımlanması önemli bir çalışma alanıdır.

Glioblastoma tümörlerinin ortaya çıkışı, gelişimi, nüks etmesi, kemoterapi ve radyoterapiye karşı direnç süreçlerinde tümör dokusu içerisindeki kök hücrelerin önemli roller üstlendiğini ortaya atan çok sayıda hipotez göze çarpmaktadır. Kök hücrelerin kemoterapi ve radyoterapiye karşı direnç geliştirmesindeki olası moleküler mekanizmalarını açıklayan hipotezlerin başlıcaları: GKH'nin (a) membran transport proteinlerinin ekspresyonlarını arttırması, (b) DNA hasarlarına daha fazla tolerans göstermesi, (c) apoptotik sinyallerin hassasiyetini düşürmesi, (d) çoğalma faktörlerinin sentezini arttırması ve (e) transkripsiyon sürecinde düzensizlikler oluşturmasıdır (90). Glioblastoma

tümör dokularında varlığı ve direnç oluşumundaki etkisi gösterilen kök hücrelerin bu fonksiyonlarının aydınlatılması başarılı bir glioblastoma tedavisi açısından son derece önemlidir.

Sonuç

Günümüzde küresel ölçekte kansere yakalanma sıklığı giderek artmaktadır. Buna paralel olarak da kanser araştırmalarına verilen önemden dolayı tedavi seçenekleri de çoğalmakta ve çeşitlenmektedir. Kanser türüne ve evresine özgü yeni kemoterapötik ajanlar geliştirme ile tedavi sürecinde karşılaşılan çoklu ilaç direncini kırma veya azaltma stratejileri geliştirme, öncelikli araştırma alanlarıdır. Bütün bu araştırmaların başarısı kanser hücresinin normal hücreden farklılaşan davranışlarını, moleküler düzeyde daha iyi çözümlenmeye ve olası hedef molekülleri doğru saptamaya bağlıdır.

Çoklu ilaç direnci, kanser tedavisi sürecinde sıklıkla karşılaşılan bir olgudur. Glioblastoma, kanser türleri içerisinde konumu, sağ kalım süresinin kısalığı ve ilacın hedef dokuya ulaşabilirliğinin zorluğu noktalarından özgün bir tümördür. Bu nedenle, bu tümörlerde çoklu ilaç direnci kazanmalarının geciktirilmesi veya önlenmesi hayati öneme sahiptir. Bu derlemede glioblastoma tümörlerinde görülen çoklu ilaç direncinin olası mekanizmaları güncel literatür ışığında tanımlanarak sistemik ve bütüncül bir bakış açısı ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Kaynaklar

1. Weaver J. A new look at "filler cells" in the brain reveals their role in learning. *PLoS Biol* 2012;10:e1001263.
2. Verkhratsky A and Butt A. Introduction to Glia, in *Glial Neurobiology: A Textbook*. 1st ed. Chichester, UK, John Wiley & Sons Ltd, 96-121.
3. Aggarwal S, Yurlova L, Simons M. Central nervous system myelin: structure, synthesis and assembly. *Trends Cell Biol* 2011;21:585-93.
4. Harry GJ, Kraft AD. Microglia in the developing brain: a potential target with lifetime effects. *Neurotoxicology*. 2012;33:191-206.
5. Sevc J, Daxnerová Z, Haňová V, et al. Novel Jiangs on the origin of ependymal cells in the ventricular zone of the rat spinal cord. *Acta Histochem* 2011;113:156-62.
6. Jiang Y, Uhrbom L. On the origin of glioma. *Ups J Med Sci* 2012;117:113-121.
7. Herrup K, Yang Y. Cell cycle regulation in the postmitotic neuron: oxymoron or new biology? *Nat Rev Neurosci* 2007;8:368-378.
8. Nagane M, Huang HJ, Cavenee WK. Causes of drug resistance and novel therapeutic opportunities for the treatment of glioblastoma. *Drug Resist Updat* 1999;2:30-37.
9. Chen Y, Liu L. Modern methods for delivery of drugs across the blood-brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev* 2012;64:640-665.

10. Pitz MW, Desai A, Grossman SA, et al. Tissue concentration of systemically administered antineoplastic agents in human brain tumors. *J Neurooncol* 2011;104:629-38.
11. Haar CP, Hebbbar P, Wallace GC, et al. Drug resistance in glioblastoma: a mini review. *Neurochem Res* 2012;37:1192-200.
12. Potschka H. Targeting regulation of ABC efflux transporters in brain diseases: a novel therapeutic approach. *Pharmacol Ther* 2010;125:118-27.
13. Bredel M, Zentner J. Brain-tumour drug resistance: the bare essentials. *Lancet Oncol* 2002;3:397-406.
14. Beaulieu E, Demeule M, Ghitescu L, et al. P-glycoprotein is strongly expressed in the luminal membranes of the endothelium of blood vessels in the brain. *Biochem J* 1997;326:539-44.
15. Cordon-Cardo C, O'Brien JP, Casals D, et al. Multidrug-resistance gene (P-glycoprotein) is expressed by endothelial cells at blood-brain barrier sites. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86:695-8.
16. Goldman B. Multidrug resistance: can new drugs help chemotherapy score against cancer? *J Natl Cancer Inst* 2003;95:255-7.
17. Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *J Lipid Res* 2001;42:1007-17.
18. Vries NA, Buckle T, Zhao J, et al. Restricted brain penetration of the tyrosine kinase inhibitor erlotinib due to the drug transporters P-gp and BCRP. *Invest New Drugs* 2012;30:443-9.
19. Tsuruo T, Naito M, Tomida A, et al. Molecular targeting therapy of cancer: drug resistance, apoptosis and survival signal. *Cancer Sci* 2003;94:15-21.
20. Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, et al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:15665-70.
21. Lu C, Shervington A. Chemoresistance in gliomas. *Mol Cell Biochem* 2008;312:71-80.
22. Natarajan K, Xie Y, Baer MR, et al. Role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in cancer drug resistance. *Biochem Pharmacol* 2012;83:1084-103.
23. Vries NA, Zhao J, Kroon E, et al. P-glycoprotein and breast cancer resistance protein: two dominant transporters working together in limiting the brain penetration of topotecan. *Clin Cancer Res* 2007;13:6440-9.
24. Elmeliogy MA, Carcaboso AM, Tagen M, et al. Role of ATP-binding cassette and solute carrier transporters in erlotinib CNS penetration and intracellular accumulation. *Clin Cancer Res* 2011;17:89-99.
25. Vries NA, Buckle T, Zhao J, et al. Restricted brain penetration of the tyrosine kinase inhibitor erlotinib due to the drug transporters P-gp and BCRP. *Invest New Drugs* 2010;27:31-40.
26. Agarwal S, Sane R, Ohlfest JR, et al. The role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in the distribution of sorafenib to the brain. *J Pharmacol Exp Ther* 2011;336:223-33.
27. Garwal S, Sane R, Gallardo JL, et al. Distribution of gefitinib to the brain is limited by P-glycoprotein (ABCB1) and breast cancer resistance protein (ABCG2)-mediated active efflux. *J Pharmacol Exp Ther* 2011;334:147-55.

28. Zhou L, Schmidt K, Nelson FR, et al. The effect of breast cancer resistance protein and P-glycoprotein on the brain penetration of flavopiridol, imatinib mesylate (Gleevec), prazosin, and 2-methoxy-3-(4-(2-(5-methyl-2-phenyloxazol-4-yl)ethoxy)phenyl)propanoic acid (PF-407288) in mice. *Drug Metab Dispos* 2009;37:946-55.
29. Ballatori N, Hammond CL, Cunningham JB, et al. Molecular mechanisms of reduced glutathione transport: role of the MRP/CFTR/ABCC and OATP/SLC21A families of membrane proteins. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;204:238-55.
30. Cole SP, Bhardwaj G, Gerlach JH, et al. Overexpression of a trans-porter gene in a multidrug-resistant human lung cancer cell line. *Science* 1992;258:1650-4.
31. Benyahia B, Huguët S, Declèves X, et al. Multidrug resistance-associated protein MRP1 expression in human gliomas: chemosensitization to vincristine and etoposide by indomethacin in human glioma cell lines overexpressing MRP1. *J Neurooncol* 2004;66:65-70.
32. Borst P, Evers R, Kool M, et al. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1295-302.
33. Leggas M, Adachi M, Scheffer GL, et al. MRP4 confers resistance to topotecan and protects the brain from chemotherapy. *Mol Cell Biol* 2004;24:7612-21.
34. Abe T, Hasegawa S, Taniguchi K, et al. Possible involvement of multidrug-resistance-associated protein (MRP) gene expression in spontaneous drug resistance to vincristine, etoposide and adriamycin in human glioma cells. *Int J Cancer* 1994;58:860-4.
35. Abe T, Mori T, Wakabayashi Y, et al. Expression of multidrug resistance protein gene in patients with glioma after chemotherapy. *J Neurooncol* 1998;40:11-8.
36. Bronger H, König J, Kopplow K, et al. ABCC drug efflux pumps and organic anion uptake transporters in human gliomas and the blood-tumor barrier. *Cancer Res* 2005;65:11419-28.
37. Sasaki T, Hankins GR, Helm GA. Major vault protein/lung resistance-related protein (MVP/LRP) expression in nervous system tumors. *Brain Tumor Pathol* 2002;19:59-62.
38. Aronica E, Gorter JA, van Vliet EA, et al. Overexpression of the human major vault protein in gangliogliomas. *Epilepsia* 2003;44:1166-75.
39. Berger W, Spiegl-Kreinecker S, Buchroithner J, et al. Overexpression of the human major vault protein in astrocytic brain tumor cells. *Int J Cancer* 2001;94:377-82.
40. Silber JR, Bobola MS, Blank A, et al. O(6)-Methylguanine-DNA methyltransferase in glioma therapy: Promise and problems. *Biochim Biophys Acta* 2012;1826:71-82.
41. Hayat MA. Tumors of the central nervous system. Chapter 1, Editor: Hayat MA, Springer, 2011, 3.
42. Friedman HS, McLendon RE, Kerby T, et al. DNA mismatch-repair and O -alkylguanine-DNA-alkyltransferase analysis and response to temodal in newly diagnosed malignant glioma. *J Clin Oncol* 1998;16:3851-7.
43. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352: 997-1003.
44. Paz MF, Yaya-Tur R, Rojas-Marcos I, et al. CpG island hypermethylation of the DNA repair enzyme methyltransferase predicts response to temozolomide in primary gliomas. *Clin Cancer Res* 2004;10:4933-8.
45. Weller M, Felsberg J, Hartmann C, et al. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German glioma network. *Clin Oncol* 2009;27:5750.
46. Tagliabue G, Citti L, Massazza G, et al. Tumour levels of O -alkylguanine-DNA-alkyltransferase and sensitivity to BCNU of human xenografts. *Anticancer Res* 1992;12:2123-5.
47. Fink D, Aebi S, Howell. The role of DNA mismatch repair in drug resistance. *Clin Cancer Res* 1998;4:1-6.
48. Friedman HS, Johnson SP, Dong Q, et al. Methylator resistance mediated by mismatch repair deficiency in a glioblastoma multiforme xenograft. *Cancer Res* 1997;57:2933-6.
49. Chen ZP, Malapetsa A, McQuillan A, et al. Evidence for nucleotide excision repair as a modifying factor of O6-methylguanine-DNA methyltransferase-mediated innate chloroethylnitrosourea resistance in human tumor cell lines. *Mol Pharmacol* 1997;52:815-20.
50. Chen ZP, McQuillan A, Mohr G, et al. Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency gene 2 expression and chloroethylnitrosourea resistance in human glioma cell lines. *Neurosurgery* 1998;42:1112-9.
51. Hou X, Zhao Y, Zheng YR, et al. Comparison of MGMT and ERCC₂ expression in temozolomide for the treatment of malignant glioma drug resistance and their genetic relationship. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2011;91:56-8.
52. Kuriyama M, Tsutsui K, Tsutsui Ket al. Induction of resistance to etoposide and adriamycin in a human glioma cell line treated with antisense oligodeoxynucleotide complementary to the messenger ribonucleic acid of deoxyribonucleic acid topoisomerase II alpha. *Neurol Med Chir* 1997;37:655-1.
53. Matsumoto Y, Kunishio K, Nagao S. Increased phosphorylation of DNA topoisomerase II in etoposide resistant mutants of human glioma cell line. *J Neurooncol* 1999;45:37-46.
54. Bredel M. Anticancer drug resistance in primary human brain tumors. *Brain Res Brain Res Rev* 2001;35:161-204.
55. Bredel M, Zentner J. Brain-tumour drug resistance: the bare essentials. *Lancet Oncol* 2002;3:397-406.
56. Cho SG, Lee YH, Park HS, et al. Glutathione S-transferase mu modulates the stress-activated signals by suppressing apoptosis signal-regulating kinase 1. *J Biol Chem* 2001;276:12749-55.
57. Muller M, Meijer C, Zaman GJ, et al. Over-expression of the gene encoding the multidrug resistance-associated protein results in increased ATP-dependent glutathione S-conjugate transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:13033-7.
58. Jedlitschky G, Leier I, Buchholz U, Center M, Keppler D. ATP-dependent transport of glutathione S-conjugates by the multidrug resistance-associated protein. *Cancer Res* 1994;54:4833-6.
59. Tew KD. Glutathione-associated enzymes in anticancer drug resistance. *Cancer Res* 1994;54:4313-20.
60. Bossanyi P von, Dietsch S, Dietzmann K, et al. Immunohistochemi-

- cal expression of P-glycoprotein and glutathione S-transferases in cerebral gliomas and response to chemotherapy. *Acta Neuropathol* 1997;94: 605-11.
61. Mousseau M, Chauvin C, Nissou MF, et al. A study of the expression of four chemoresistance-related genes in human primary and metastatic brain tumors. *Eur J Cancer* 1993;29: 753-9.
 62. Strange RC, Fryer AA, Matharoo B, et al. The human glutathione S-transferases: comparison of isoenzyme expression in normal and astrocytoma brain. *Biochim Biophys Acta* 1992;1139:222-8.
 63. Vaupel P, Kelleher DK, Höckel M. Oxygen status of malignant tumors: pathogenesis of hypoxia and significance for tumor therapy. *Semin Oncol* 2001;28:29-35.
 64. Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, et al. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002;62:3387-94.
 65. Rohwer N, Cramer T. Hypoxia-mediated drug resistance: novel insights on the functional interaction of HIFs and cell death pathways. *Drug Resist Updat* 2011;14:191-201.
 66. Chen L, Feng PM, Li SF, et al. Effect of hypoxia-inducible factor-1 alpha silencing on the sensitivity of human brain glioma cells to doxorubicin and etoposide. *Neurochem Res* 2009;34:984-90.
 67. Laughner E, Taghavi P, Chiles K, et al. HER2 (neu) signaling increases the rate of hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha) synthesis: novel mechanism for HIF-1-mediated vascular endothelial growth factor expression. *Mol Cell Biol* 2001;21:3995-4004.
 68. Robinson DR, Wu YM, Lin SF. The protein tyrosine kinase family of the human genome. *Oncogene* 2000;20:5548-57.
 69. Ronellenfitsch MW, Steinbach JP, Wick W. Epidermal growth factor receptor and mammalian target of rapamycin as therapeutic targets in malignant glioma: current clinical status and perspectives. *Target Oncol* 2010;5:183-91.
 70. Durmaz R, Vural M. Primer ve sekonder glioblastoma multiforme genetiği. *Türk Nöroşirürji Derg* 2007;17:80-90.
 71. Lo HW. EGFR-targeted therapy in malignant glioma: novel aspects and mechanisms of drug resistance. *Curr Mol Pharmacol* 2010;3:37-52.
 72. Nagane M, Levitzki A, Gazit A, et al. Drug resistance of human glioblastoma cells conferred by a tumorspecific mutant epidermal growth factor receptor through modulation of Bcl-XL and caspase-3-like proteases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:5724-9.
 73. Haas-Kogan DA, Prados MD, Tihan T, et al. Epidermal growth factor receptor, protein kinase B/Akt, and glioma response to erlotinib. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:880-7.
 74. Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, et al. Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors. *N Engl J Med* 2005;353:2012-24.
 75. Thiessen B, Stewart C, Tsao M, et al. A phase I/II trial of GW572016 (lapatinib) in recurrent glioblastoma multiforme: clinical outcomes, pharmacokinetics and molecular correlation. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010;65:353-61.
 76. Lo HW, Cao X, Zhu H, et al. Constitutively activated STAT3 frequently coexpresses with epidermal growth factor receptor in high-grade gliomas and targeting STAT3 sensitizes them to irressa and alkylators. *Clin Cancer Res* 2008;14:6042-54.
 77. Pillay V, Allaf L, Wilding AL, et al. The plasticity of oncogene addiction: implications for targeted therapies directed to receptor tyrosine kinases. *Neoplasia* 2009;11:448-58.
 78. Stommel JM, Kimmelman AC, Ying H, et al. Coactivation of receptor tyrosine kinases affects the response of tumor cells to targeted therapies. *Science* 2007;318:287-90.
 79. Huang PH, Mukasa A, Bonavia R, et al. Quantitative analysis of EGFRvIII cellular signaling networks reveals a combinatorial therapeutic strategy for glioblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:12867-72.
 80. Potschka H. Targeting regulation of ABC efflux transporters in brain diseases: a novel therapeutic approach. *Pharmacol Ther* 2010;125:118-27.
 81. Newcomb EW, Bhalla SK, Parrish CL, et al. Bcl-2 protein expression in astrocytomas in relation to patient survival and p53 gene status. *Acta Neuropathol* 1997;94:369-75.
 82. Prowit-MacDonald A, Ivory K, Wilkinson S, et al. Bcl-2 protein expression in normal human bone marrow precursors and in acute myelogenous leukemia. *Leukemia* 1995;9:1191-98.
 83. Robertson LE, Plunkett W, McConnell K, et al. Bcl-2 expression in chronic lymphocytic leukemia and its correlation with the induction of apoptosis and clinical outcome. *Leukemia* 1996;10:456-9.
 84. George J, Banik NL, Ray SK. Bcl-2 siRNA augments taxol mediated apoptotic death in human glioblastoma U138MG and U251MG cells. *Neurochem Res* 2009;34:66-78.
 85. George J, Banik NL, Ray SK. Combination of taxol and Bcl-2 siRNA induces apoptosis in human glioblastoma cells and inhibits invasion, angiogenesis and tumour growth. *J Cell Mol Med* 2009;13:4205-18.
 86. Streffer JR, Rimner A, Rieger J, et al. Bcl-2 family proteins modulate radiosensitivity in human malignant glioma cells. *J Neurooncol* 2002;56:43-9.
 87. Weller M, Malipiero U, Aguzzi A, et al. Protooncogene bcl-2 Gne transfer abrogates Fas/APO-1 antibody-mediated apoptosis of human malignant glioma cells and confers resistance to chemotherapeutic drugs and therapeutic irradiation. *J Clin Invest* 1995;95:2633-43.
 88. Lu C, Shervington A. Chemoresistance in gliomas. *Mol Cell Biochem* 2008;312:71-80.
 89. Kenan K, Çetin E, Cengiz E, Konuralp İ, Savaş C. Astroisitomalarda BCL-2 ve Cyclin A ekspresyonu ve prognoz ile ilişkisi. *Türk Nöroşirürji Derg* 2004;14:71-6.
 90. Schmalz PG, Shen MJ, Park JK. Treatment resistance mechanisms of malignant glioma tumor stem cells. *Cancers (Basel)* 2011;3:621-35