

Kanser Biyokimyası

Beran YOKUŞ* , Dilek Ülker ÇAKIR**

* Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya ABD, Diyarbakır

**Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya ABD, Çanakkale

Özet

Son yıllarda yapılan çalışmalar kanserin oluşumu ve gelişimi ile ilgili biyokimyasal ve moleküler düzeyde yeni katkılar sağlamıştır. Kanser çok basamaklı ve uzun süreli genotipik ve fenotipik düzeyde bir süreçtir.

Günümüzde hücre bölünme ve büyümesinden sorumlu biyokimyasal mekanizmalar, hücre büyümesini uyaran moleküller, büyüme mekanizmasını kontrol eden proteinler, gerektiği zamanda büyümenin sınırlandırılmasından sorumlu olan genler ve mekanizmalar ile kanser oluşumu ve gelişimi, moleküler düzeyde açıklanmaya çalışılmaktadır. Önümüzdeki yıllarda, klasik kanser tedavileri yerine hücre siklusu ve kanser alanında elde edilen yeni bilgilerin ışığında, yeni ve daha özel tedavi yöntemleri uygulanacaktır.

Anahtar kelimeler: kanser, kanser biyokimyası, protoonkogenler, onkogenler, apoptozis, hücre siklusu, hücre büyümesi, tümör baskılayıcı genler, DNA onarım genleri, sitokinler, onkogeniz.

CANCER BIOCHEMISTRY

Summary

In consequences of recent researches, new approaches had been presented for cancer and biochemical mechanisms explaining every steps of cancer from formation to maturation. Cancer is multistep and long term process at genotypical and phenotypical level.

The formation and maturation of cancer are tried to explain in molecular level by biochemical mechanisms responsible from cell separation and development molecules stimulating cell development, proteins controlling and arranging development genes and mechanisms responsible to limit development just in time. In the future, the new and more special treatment methods are necessary instead of classical cancer treatments owing to new knowledgements obtained on the cell cycle and cancer field.

Key words: Cancer, cancer biochemistry, protooncogenes, oncogenes, apoptozis, cell cycle, cell growth, tümör suppressor genes, DNA repair genes, cytokines, oncogenesis.

Kısaltmalar: ROS: Reaktif Oksijen türü, CDK: Siklin bağımlı kinaz, pRB: Retinoblastoma proteini, MPF: Maturasyon promoting faktör, TGF: Dönüştürücü büyüme faktörü, PDGF: Plateletten türeyen büyüme faktörü, PTK: Protein trozin kinaz, JAK: Januz kinaz, GTP: Guanozin tri fosfat, GDP: Guanozin di fosfat, GAP: GTPaz aktive edici protein.

GİRİŞ

Kanser büyüme özellikleri bozulmuş hücrelerin klonal yayılımıdır ve somatik genetik hastalıkların en sık, en yaygın ve aynı zamanda en komplike olanıdır (1). Bu çalışmanın amacı, kanserin oluşum ve gelişim mekanizması ile ilgili yapılan son çalışmaların ışığı altında, biyokimyasal ve moleküler mekanizmasının anlaşılmasına yardımcı olmaktır..

Batı toplumlarında her üç insandan birinde kanser gelişmekte ve beşte biri ölmektedir (1, 2). Tüm kanserler, DNA dizisindeki birtakım anormalliklerle oluşmaktadır. Kanserlerin %10-15 sinin, kalıtsal olduğu yani ebeveynlerden gelen genlerle aktarıldığı, geriye kalan %85-90'lık kısmını ise yaşam boyunca canlı hücrelerdeki DNA'nın, mutajenlere maruz kalması, hücre DNA sındaki hafif progressif değişiklikler ve replikasyonda hatalar oluşması ile şekillendiği düşünülmektedir. Bazen oluşan bu mutasyonlardan biri, içinde bulunduğu hücrenin büyümesini ve bu hücreden türeyen bir kanser klonunun oluşmasını sağlar.

Kanser multifaktöryel olup, bakterilerden virüslara, radyasyondan kalıtıma, çevresel faktörlerden beslenme alışkanlığına ve kimyasallara kadar birçok faktör kanser oluşumunda suçlanmaktadır (3-8).

Kalıtım yoluyla kanser meydana gelme olasılığı çevresel faktörlere oranla çok daha azdır. Genlerin, bazı hastalıklara karşı yatkınlığa neden olup olmadıkları konusundaki araştırmalar halen devam etmektedir. Normalde tümör gelişimini önleyen tümör baskılayıcı genlerdeki bir bozukluğun, kalıtsal olarak aktarılması ve sigara gibi bir karsinogenin ilave katkısı ile bireyler kansere yatkın bir hale gelebilmektedirler. Meme ve yumurtalık kanseri gibi bazı kanser türlerinde, kanserin kalıtsal geçişine ait bazı genler tespit edilmiştir. Lösemiler ve bazı çocukluk çağı tümörleri (Wilms tümörü, retinoblastoma) kalıtsal özellik gösterir. Kalın barsakta polip gelişimine olan genetik yatkınlıkta, kalın barsak kanseri gelişim riskini artırmaktadır. Her ne kadar kalın barsak (kolon) kanserlerinin çoğu yaklaşık %85-90'ı doğumdan sonra meydana gelen mutasyonların eseri olsada, geriye kalan kısmı kalıtsaldır. Vogelstein ve ark. kalıtsal kolon kanserlerinin, polipli (familial adenomatous polyposis, FAP) ve polipsiz (hereditary non-

polyposis colorectal cancer, HNPCC) iki farklı türünün olduğunu bulmuşlardır. FAP'a sebep olan mutasyonun hücrede fren görevi gören APC geninde olduğunu, HNPCC' de ise DNA onarım genlerinde meydana gelen bir mutasyonun sebep olduğunu belirtmişlerdir. Eğer hücrede DNA'nın yapısında meydana gelebilecek hataları düzeltecek bir mekanizma çalışmıyorsa, her hücre bölünmesi sonrası (DNA'nı kendi kopyası yapılacağından) var olan mutasyonlara yenileri ekenecek ve başlamış olan kötüye gidiş kısa bir süre sonra metastazlara yol açacaktır. Bu nedenle HNPCC deki kötüye gidiş FAP'a göre oldukça hızlıdır.

Çevresel olarak maruz kaldığımız birçok kimyasal madde, kansere sebep olmaktadır. İlaçlar ve yağlı yiyecekler, bazı küfler (alfatoksinler), iyottan fakir diyet, kırmızı etten zengin diyetler, yanmış yağları içeren besinler de kansere sebep olan önemli çevresel faktörlerdendir. Sigara, alkol, hardal gazı, benzen, kömür tozu ve zifti, madeni yağlar, naftalin ve asbestos da diğer kimyasal kanser yapıcı etkenlerdir.

Sigara içen kadınlarda akciğer kanserine yakalanma olasılığının erkeklere göre 3 kat fazla olmasının nedeni olarak gösterilen yüksek östrojen seviyeleri, kanserin birçok etmenin bir araya gelmesi ve birbirini etkilemesi ile ortaya çıktığı görüşünü destekler. Sigara içen kişilerde akciğerlerde biriken "benzopiren" (bir epoksit'dir) hücre içine girerek, burada DNA'yı oluşturan dört bazdan biri olan guanin ile bağlanır. Replikasyon sırasında guanine bağlanmış olan epoksit yüzünden guanin, timin olarak algılanır ve bunun sonucunda karşısındaki eşlenik bazda sitozin yerine adenin olur (GC, AT dönüşümü). Sonuçta oluşan bu mutasyonlar, ilerleyen bölümlerde söz edeceğimiz K-ras adındaki oncogene ve hücre bölünmesinde fren görevi yapan p53 geninde oluştuğunda, akciğer hücreleri durmadan bölünerek tümör olutururlar.

Helicobacter pylori, T hücreli lösemi virüsü, human papilloma virüsü gibi virüs ve bakteriler de fiziksel ve kimyasal etkenler gibi, biyolojik olarak normal karaktere sahip bir hücre kültürünü transforme ederek kanser oluşturabilirler.

Kansere sebep olan fiziksel etkenler içinde, radyasyon, ısı, güneş ışığı, mekanik darbeler bulunmaktadır. İyonize radyasyon gibi ışınımlar (x, gama ışınları, nükleer emisyonlar, Ultra viole ışınları) biyolojik makromoleküllere

direkt olarak etki edebilecek yeterli intrinsic (quantum) enerjiye sahiptirler. Böylelikle biyolojik makromoleküllerden elektron kopartabilir ya da bunları pozitif yükü yükleyebilir (9-11). Bu ise DNA'da tek ve çift zincir kırıkları ile baz yada şekerde modifikasyonlara sebep olur. Son yıllarda elektrikli ev aletlerinden yayılan, düşük ve yüksek frekanslı manyetik alanların da (non-iyonize ışınım) DNA üzerinde hasar oluşturduğuna dair çalışmalar mevcuttur (12, 13). Bizim kendi çalışmalarımızda göstermiştir ki, çok düşük frekanslı elektro magnetik alanın (EMF-MF) (50 Hz, 0.97 mT) lökosit DNA'sında 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine düzeyini artırdığı yönündedir. Bunun manası ise DNA'da G-C, A-T dönüşümüne sebep olarak, ELF-MF'nin prekanseröjenik etki göstermesidir (14). Daha sonra yaptığımız bir başka çalışmada ise, 0,1 mT ELF-MF uygulanmasının DNA'daki diğer bazlardada farkı hasarlara (FapyAde, FapyGua, 8OHdG) sebep olduğunu belirledik (15).

Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva ettiklerinden oldukça reaktifler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan reaktif oksijen türleridir (ROS). ROS'un kanser oluşumunun farklı evrelerine etki ettiği ve böylece kanser oluşumunda birçok roller üstlendiğine dair önemli kanıtlar vardır (8, 16).

ROS oluşumunu ve bunun oluşturduğu hasarı önlemek için vücutta bulunan savunma mekanizmalarına antioksidan koruma sistemi (antioksidanlar) denir. Hücrel oksidan sisteme karşı antioksidan koruma sistemi, gerekli dengeyi sağlar. Hücrel oksidan sistemin aşırı yüklenmesi yüzünden bu kritik denge bozulduğu zaman (oksidatif stres) ROS, hücre hasarı oluşturur (9).

ROS'tan kaynaklanan DNA hasarı oluşumunun temelinde Halliwell'e göre iki mekanizma vardır: Birincisi direkt olarak hidroksil radikali tarafından oluşturulan DNA zincir kırılımı, baz modifikasyonu ve deoksiriboz fragmentasyonudur. İkincisi, oksidatif stres sonucu oluşan endonükleaz inaktivasyonu ile DNA fragmentasyonlarının meydana gelmesidir (17). Ayrıca ROS ve ROS oluşumuna yol açan karsinogenler, büyüme desteği, büyüme inhibisyonu ve apoptotik sinyal yollarına etki ederek, tümör oluşumunu ve gelişimini etkileyebilir (18, 19).

Oksidatif strese bağlı olarak gelişen, DNA hasarı eğer onarılmazsa, premutajenik özellik gösterir (9). Mitozun hasarlı

kopyalanmış DNA ile devamı, tümör hücresi ile sonlanabilir. Ayrıca ROS, protein ve lipid peroksidasyonu ile plazma membranında hücrel aktiviteleri etkileyerek yapısal değişiklikler oluşturabilir. ROS membrana bağlı protein kinazları, büyüme faktörleri ve reseptörlerini böylece de sinyal iletimini, onkogen aktivasyonunu ve baskılayıcı genlerin inaktivasyonunu etkileme yeteneğine sahiptir. Bu da göstermektedir ki ROS, onkogenler ve kanser oluşumu üzerinde önemli etkiye sahiptir (16).

Çevresel faktörlerin ve beslenme alışkanlıklarının olumlu yönde olması ise kanserlerden korunmada oldukça önemlidir. Meyve ve sebze tüketiminin akciğer, mide, meme, pankreas, kalın bağırsak, gırtlak ve yemek borusu kanserlerini önlediğine dair pek çok bilimsel bulgu vardır. ROS'un kanserogenezdeki olumsuz etkilerine karşı, meyve ve sebzelerin içerdiği olduğu antioksidanlar ve posalı yapıları sayesinde koruyucu etki gösterdiği belirlenmiştir.

Genetik değişiklik replikasyonla yayıldığından dolayı karsinogenesis için hedef hücreler, dokularda sürekli yenilenen kök hücreleridir (20). Tümör oluşumu, neoplastik transformasyon (genetik defektlerin gelişimiyle normal hücrenin neoplastik hücreye dönüşümü) ve neoplastik gelişim olarak ikiye ayrılır. Onkogenesis ve karsinogenesisde olayların ilk basamağını neoplastik transformasyon oluşturmaktadır (21, 22). Neoplastik transformasyon spontan olabileceği gibi çeşitli şekillerde indüklenerek de (baz çifti değişikliklerini, mispairing, delesyon, translokasyonları ve amplifikasyonları) oluşabilir (20). Başka bir deyişle oluşan neoplastik transformasyon, DNA replikasyonunun ve tamir mekanizmalarının düzgün çalışmaması sonucu hücrelerde oluşan mutasyonların sonucudur. Mutasyonlar, büyüme kontrolünün kaybı (23, 24) ile sonuçlanarak, proto-onkogenler, tümör baskılayıcı genler, tümör baskılayıcı genleri düzenleyici genler ve büyüme kontrol eden genlerde oluşur. (25-27).

Onkogenesisin ikinci basamağında yer alan neoplastik gelişme, kanser hücresinin klonal proliferasyonuna yol açarak (20, 29), önce çevre dokulara sonra da uzak dokulara yayılarak büyümesini sağlar (30). Sürekli proliferasyonla tümörün biyolojik davranışında malignansiye doğru giden progressif değişiklikler ortaya çıkar (31).

Özetle, kansere sebep olan etmen her ne olursa olsun, sonuçta hücrenin genetik malzemesinde bozulma meydana gelir. Tek bir gendeki mutasyondan çok, birkaç gende birden oluşan hasar (hücre sayısının artması yönünde çalışan genler oncogenler, tümör önleyici genler ve DNA onarım genleri) kanser oluşumunda rol oynamaktadır.

Kanserde değişikliğe uğramış genler, normalde doku homeostasisi ve hücre büyümesini düzenleyen üç ana biyolojik yolu (hücre siklusu, apoptosis ve diferansiyasyon) etkiler. Bir yolda oluşan aksamalar, bir diğerinde derin sonuçlara neden olabilir (32).

Hücre Siklusu ve Siklusa Etkili Faktörler

Son zamanlarda yapılan birçok araştırmada hücre siklusunu düzenleyen proteinler ve onkogenesis arasında kurulan bağlantıların sayısında önemli bir artış gözlenmektedir. Hücre siklusunun kontrol noktalarında ve düzenlenmesindeki anormallikler kanser gelişimine yol açar. Mutasyona, overekspresyona uğramış hücre siklusu mekanizmasında yer alan bileşenler çeşitli insan kanserlerinde belirlenmiştir. Bu mutasyona uğramış hücre siklusu bileşenlerinin bazıları onkogen ve tümör baskılayıcı gen (antionkogenler, hemerogenler, flatogenler) olarak da bilinir (33).

Hücre siklusu, hücre büyümesi ve hücre çoğalması için programlanmıştır (34). Organizmanın yürüttüğü bir program olan ve hücreler arasında farklılık gösteren hücre döngüsünün süresi, bir dakika ile bir sene arasında değişmekte ve dört evrede gerçekleşmektedir:

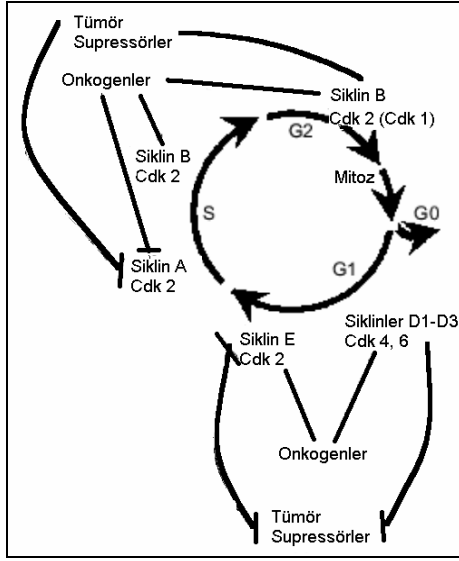
1. S evresi (Sentez): DNA replikasyonu, kromozom çiftlenmesi, RNA ve protein sentezi gerçekleşir.
2. G-2 evresi (G=Gap): DNA replikasyonu olmaz, RNA ve protein sentezi devam eder.
3. M evresi (Mitoz): Mitoz ve sitokinez gerçekleşir.
4. G-1 evresi: İlk bölünmede oluşan eş hücrelerin tekrar hücre bölünmesine girmeden S evresine hazırlandığı evredir. DNA replikasyonu olmaz. ancak RNA ve protein sentezi devam eder.

Mitozdan G-1 evresine geçen hücreler ya bölünmeye devam etmekte ya da bölünmeleri durmaktadır. G-1 ve S evresi arasındaki G-0

evresi ise, son farklılaşmasını tamamlamış hücrelerin dinlenme evresidir. Bölünmesi duran ve tüm biyokimyasal olayların aktif olarak sürdüğü hücrelerin geçtiği, G-0 evresindeki hücre tekrar bölüneceği zaman döngüye G-1 evresinden katılmaktadır. Büyüme faktörleri, sitokinler ve tümör virüsleri gibi mitojenik iletiler, hücrenin S evresine geçiş hazırlıkları yaptığı G-1 evresine girmesini sağlar. Hücre döngüsünün kontrol altında tutulduğu noktalar G-1, G-2 evrelerinde ve M evresinin son aşamalarında bulunmaktadır (34-40).

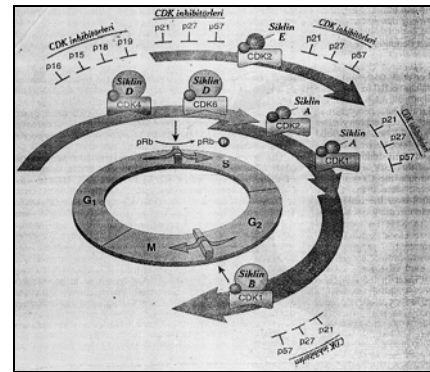
Hücre döngüsünün her aşaması siklinler olarak bilinen bir dizi protein ailesi tarafından düzenlenmekte ve bir grup siklinin görevini tamamlamasından sonra, diğer grup aktif hale gelmektedir (34, 37-39). Hücre kopyalanması kesin bir hücre mekanizma ile yönlendirilmektedir. Bu mekanizmanın motoru, hücrenin metabolik aktivitelerini ve hücre bölünmesini düzenleyen, hücre döngüsü evrelerini kontrol eden siklin-bağımlı kinazlardan (CDKs) oluşmaktadır (37, 38). Hücre döngüsünün özel fazlarında sentezlenen değişik siklinler, bağlandıkları bu inaktif CDK moleküllerini aktive etmektedirler (34, 37-40).

Siklin proteinleri arasında, siklin A, B, C, D ve CDK proteinleri arasında ise, CDK 1, 2, 3, 4, 5, 6 bulunmaktadır. G-1 evresinin orta ve son dönemlerinde Siklin D-CDK 4 ile Siklin D-CDK 6, geç dönemlerinde Siklin E-CDK 2 ve S evresinde Siklin A-CDK 2 ile işlev görmektedir. Büyümeyi uyaran sinyal, hücrede D siklin ailesinin düzeyini artırmakta ve uygun CDKs aktive olmaktadır. Bu nedenle D siklin salınımının kontrolünün bozulduğu bir mutasyon, hücreyi S fazına sokmakta ve neoplastik transformasyon gelişmektedir (37, 38, 40-43). S evresinde DNA sentezinde görevli enzimler ve DNA sentezi için gerekli genlerin ekspresyonu gerekir. (Şekil-1)



Şekil 1. Hücre siklusunu, siklinler ve CDKs ilişkisi. Siklin -CDK komplekslerinin hücre siklusunu içinde ardışık bir rolü vardır. Bunların çoğu onkogenlerin aktive edici ve tümör baskılayıcılarının inhibe edici etkilerine hedeflidir. Pekçok onkogen ve tümör baskılayıcılarının protein ürünleri, sentez öncesi faz G1'in başlangıç basamaklarından sorumlu (hücre tipine bağlı olarak CDK4 veya CDK6 ile siklin D1-D3 kompleksleri) ve DNA sentezinin (siklinE-CDK2) S fazına G1'in geçişinden sorumlu siklin bağımlı kinazların aktivitesini artırır. Bazı proto onkogen ve tümör baskılayıcılar, siklinA-CDK2 (DNA replikasyonundan sorumlu) ve siklinB-CDK1(mitoza G2 fazının geçişini artırır) komplekslerinin aktivitesini artırır (37).

Ekstrasellüler ileti moleküllerinin (mitogenler) kendi reseptörlerine bağlanmasıyla aktiflenen proteinkinazlar, sitoplazmadaki sinyal ileti moleküllerini (Ras ve Jak) ve transkripsiyon faktörlerini (Jun, Fos, NF-AT, NFκβ, Myc) fosforilleyen kinazları (proteinkinaz C ve ERK) uyarmaktadır. Böylelikle genlerin uyarılması için çeşitli transkripsiyon faktörleri, fosforillenerek aktifleşmekte ve çekirdeğe taşınarak ilişkili genleri uyarmaktadır. Transkripsiyonel düzenlemeyi sağlayan E2F, pRb (retinoblastoma proteini, tümör baskılayıcı gen ürünü ve hücre döngüsünü düzenleyicidir) ile bağlı konumdadır ve pRb tarafından inhibe edilmektedir. G-1 evresinden S evresine geçişi sağlayan restriksiyon noktasının aşılması için E2F gereklidir. Proteinkinazların etkisiyle (Siklin D-CDK4, Siklin D-CDK 6 kompleksleri ile) E2F bağlı Rb fosforilasyonu sonucu, E2F serbest hale geçirilmekte, hücre döngüsünün en önemli kontrol noktası olan G-1 fazından S fazına geçiş engeli aşılmakta ve hücre DNA sentez fazına girmektedir. E2F transkripsiyon faktörünün aktiflenmesi sonucu DNA replikasyonu için gerekli proteinler, Deoksiribonükleotid ve düzenleyici proteinlerden (siklinler ve proteinkinazlar-CDK) bazıları sentez edilmektedir (35, 37) (şekil 2).



Şekil 2. Hücre siklusunun düzenlenmesinde siklinler, CDK ve CDK inhibitörlerinin rolü. Hücre siklusunun fazları boyunca spesifik siklin/CDK kompleksleri aktiftir. CDK etkisini sona erdiren CDK inhibitörlerinin iki ailesi vardır: p16, p15, p18, p19 dan oluşan INK4 inhibitörleri olarak da adlandırılan grup ve p21, p27, p57 olarak bilinen grup (35, 37).

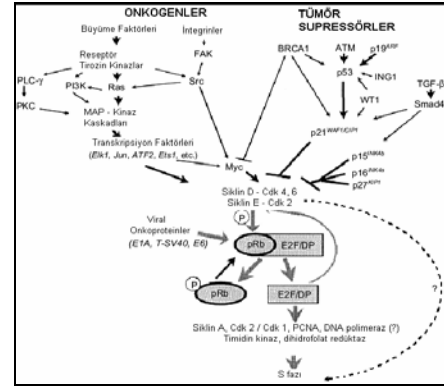
Hücre bölünme evresi öncesinde, DNA hasarının engellendiği ve/veya tamir edildiği aşamalar yer almaktadır. Bu döngünün evreleri, büyüme faktörleri, sitokinler, onkogenler, siklinler, CDK gibi proteinler ve MPF (Maturation Promoting Factor) ile birlikte düzenlenmekte, evrelerin herhangi birinde aksaklık (DNA hasarı) olduğunda, tümör baskılayıcı genler döngüyü hemen durdurmaktadır. Sentezlenen DNA hasarlı veya replike edilmemişse döngü M evresine girmeden G-2 evresinde durdurulmaktadır. G-1 evresinde, saptanan DNA hasarı orta derecede ise tümör baskılayıcı gen (p53) tarafından p21 proteininin sentezlenmesi sağlanmaktadır. Siklin CDK kompleksi inhibe edilerek döngü G-1 veya G-2 evresinde durdurulmakta veya askıya alınmaktadır. Eğer DNA hasarı çok büyük ise, p53 hücrenin apoptoza girmesine sebep olmaktadır (36-38).

Hücre Büyümesini Uyarın Moleküller

Hücre bölünmesini kontrol eden mekanizmalardaki bir bozukluk, kontrolsüz hücre bölünmesine ve aşırı hücre çoğalmasına neden olur. Hücre bölünme ve büyümesinden sorumlu biyokimyasal mekanizmalar, hücre çekirdeğindedir ve ekstrasellüler düzenleyici moleküllerle (mitojenler) yönlendirilir. Hücre büyümesini uyarın moleküller, büyüme faktörleri ve sitokinlerdir.

Büyüme faktörleri, hücre büyüme ve proliferasyonu olaylarının başlamasında temel rolü oynayan; hücre bölünmesini uyarın veya inhibe eden veya özelleşmiş hücreye farklılaşmasını başlatan peptidlerdir. DNA sentezi için, büyüme faktörü-reseptör etkileşimi yoluyla sinyal iletiminde yer alan faktörler, "mitogenesisin büyüme faktörü- proto-onkogen yolu" olarak isimlendirilen kaskat sistemini oluşturur. Her bir büyüme faktörü için hücre tipi ve doku kaynağı göz önüne alınmaksızın, tüm cevapçı hücreler, tam olarak aynı olmasa bile, aynı moleküler ağırlık ve biyolojik aktivitede, benzer spesifik büyüme faktörü reseptörlerine sahiptir. Büyüme faktörü- proto-onkogen yolu(ları), tüm bu cevapçı hücrelerde aynı tarzda fonksiyon gösterir. Bir büyüme faktörünün hangi işlevi başlatacağı hücre tipine ve hücre gelişim evresine göre değişmektedir. Polipeptid yapıda olan büyüme faktörleri, hidrofilik özellikte oldukları için hücre membranındaki özgün reseptörlere bağlanarak ve hücre içindeki ikincil habercileri uyararak etki ederler. Ligant reseptör komplekslerinin otofosforile olmasıyla aktiflenen proteinler

reseptörden ayrılarak çeşitli hücre içi ileti yollarını başlatmaktadır (MAPK, PKC, Fosfotidilinozitol yolu, PKA, PKB yolları). Transmembran proteinleri olan büyüme faktörü-reseptör komplekslerinin çoğu tirozin kinaz olmak üzere serin/tireonin kinaz aktivitesi taşır (35, 42) (Şekil-3).



Şekil 3. Onkogen ve tümör süpressörlerin hücre içi ileti yollarına etkisi. Pek çok protoonkogen ve tümör baskılayıcı genin ürünleri, pRb'i fosforile ederek siklin bağımlı kinazların aktivitesini düzenler. pRb'nin fosforilasyonu ve onun pek çok viral onkogene bağlanması E2F-DP transkripsiyon komplekslerinin aktivasyonu ve salınımını sağlar. Onlar, ürünlerin S fazına geçiş için gerekli genlerin ekspresyonunu artırır (35, 42).

Büyüme faktörlerini ve reseptörlerini kodlayan genlerin mutasyonu, büyüme faktörlerini onkogenik hale getirmektedir. Çevrede büyüme faktörü olmadığında bile mutant reseptör proteinleri hücreye sürekli mitojenik sinyal yollar.

Büyüme faktörü reseptörlerinin aşırı yapımı, mutasyondan daha sık görülmektedir. Normal sitoplazmik uyarıyı ileten proteinlerin fonksiyonlarını taklit eden onkoproteinlerde sık rastlanmaktadır. Büyüme faktörleriyle ilişkili protein kinaz reseptörlerinin bağlandığı ileti yolundaki proteinlere bağlanan bazı onkoproteinler, büyüme faktörlerinin etkilerini engellemekte veya değiştirmektedir. Aktif büyüme faktörü reseptöründen uyarı alan ve çekirdeğe ulaştıran bu onkoproteinlerin önemli üyeleri arasında c-ras ve c-abl bulunmaktadır. Ras gibi onkogen türleri, büyüme faktör genlerinin aşırı üretimine yol açmakta ve hücreyi transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α) gibi büyüme faktörlerinin aşırı salınımına yönlendirmektedir. Değişmiş büyüme sinyalinin sonucu sıklıkla kanserdir.

Kanser oluşumunda temel neden olan büyüme kontrolünün denetimden yoksun oluşunu, kanser hücrelerinin yapısı çok iyi sergilemektedir (35, 42). Simian sarkom virüsünde (v-sis) viral onkogen halinde bulunan, protoonkogen trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) benzer şekilde onkogenik özellik kazanmaktadır. Ayrıca c-sis kopyalayan çok değişik insan tümör dizilimleri bulunmuştur.

Sitokinler, hemopoetik hücrelerin inflamatuvar ve immün yanıtının gelişimi ve düzenlenmesinde aracılık eden, peptid veya glikoprotein yapıda kimyasal ileti molekülleridir. Salgılandıkları hücreden kan dolaşımı ile hedef hücrelere taşınan sitokinlerin endokrin, parakrin, otokrin ve jukstakrin etkileri bulunmaktadır. Sitokinler hücre döngüsü ve büyümesindeki kontrol mekanizmasında etkili olmakta veya bu fonksiyonları üstlenen diğer moleküllerin üretimini uyarmaktadır. Mitoz, hücre göçleri, hücre yaşamı ve hücre ölümü olaylarında düzenleyicidirler. Hücre çoğalma hızını etkileyen sitokinler hücrenin farklılaşma durumunu ve/veya farklılaşmış fonksiyonlarından bazılarının da ekspresyonunu değiştirmektedirler. Büyüme hormonları ile aynı mekanizma veya farklı mekanizmalarla etkili olup, büyüme faktörlerinin izledikleri hücresele yollarda etki gösterebilmektedirler.

İmmün sistem ve immün sistem dışı hücrelerde üretilen ve depolanmayan sitokinlerin üretimleri, transkripsiyon ve translasyon düzeyinde olmaktadır. Sitokinlere özgün reseptör aileleri bulunmakta ve büyüme faktörleri reseptörlerinden farklı olarak, intracellüler bölgelerinin katalitik aktiviteleri bulunmamaktadır. Sitokin reseptör kompleksleri, sitoplazmada bulunan reseptöre nonkovalent bağlarla bağlı protein tirozin kinazları (PTK) aktive etmektedirler. Aktive olan bu tirozin kinazlar (Janus kinazlar, JAK; Src protein) reseptörün hücre içi bölgesini fosforillemektedir. Hücresele SH2 bölgesi içeren sinyal iletili moleküllerin (STAT) fosforillenmiş reseptöre bağlanarak aktiflenmeleri ile hücresele ileti yolu başlamaktadır. Özgün reseptörlere bağlanan sitokinler hedef hücrede gen ekspresyonunu değiştirerek etki göstermektedir (35, 44).

Normal veya anormal sitokin reseptör veya sinyal iletilme bileşenleri aynı protoonkogen ve onkogen tarafından kodlanabilmektedir. Sistemik olaylarda hücreler arası etkileşimlerdeki anahtar rolleri nedeniyle, bugün kanserde rekombinant sitokinler ve sitokin reseptörlerinden yararlanılmaktadır (Adaptif

immünoterapi, LAK hücreleri, TIL, sitokin gen terapisi). Ancak sitokinlerin kimyasal iletilerdeki, hücre döngüsündeki, diferansiasyon ve apoptozdaki düzenleyici rollerinin daha ayrıntılı anlaşılması kanserin ve kanser tedavisinin daha iyi anlaşılmasına yararlı olacaktır.

Protoonkogenler ve Onkogenler

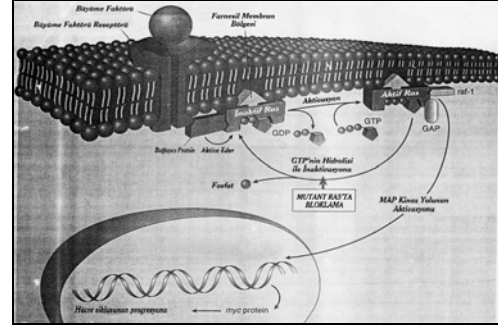
Protoonkogenler, hücrelerin sinyal ileti mekanizmasında (büyüme, çoğalma, farklılaşma ve apoptoz için alınan iletiler) işlev gören birçok proteinin sentezinden sorumlu olan genlerdir. Normal hücre büyümesinin düzenlenmesinde işlev gören proteinler (büyüme faktörleri, büyüme faktörlerinin reseptörleri, ileti çeviricileri ve transkripsiyon faktörleri), protoonkogenler ve onkogenler tarafından sentezletilmektedir. Hücre ileti yollarındaki proteinleri kodlayan protoonkogenlerin (sis, hst-1, int-2, erb-B1, erb-B2, fms, ret, ras, abl, myc, N-myc, cyclin D, CDK4 vb.) mutasyona uğramaları sonucunda, büyüme faktörlerinin çok fazla üretimi, hücre membranı ve çekirdek arasındaki ara yolların kontrolsüz uyarılması, transkripsiyon faktörlerinin sentezinin artması, hücre bölünmesine engel olunamaması gibi sonuçlar ortaya çıkmaktadır.

Büyümenin düzenlenmesini kontrol eden proteinler olan protoonkogenlerin, onkogen haline dönüşümü hücre büyümesinin kontrol mekanizmasını bozmakta, kanser hücrelerinin kontrolsüz çoğalmalarına ve büyümelerine yol açmaktadır. Büyüme ve diferansiasyonun biyokimyasal yollarında yeralan enzimlerin aktivitesini ve ekspresyonunu bozan mutasyonlar onkogenin aktivasyonu ile sonuçlanabilir. Protoonkogenler proteinlerinin önüne c [cellular(c-Fos, c-Myc)], onkogenlerin önüne ise v [viral (v-Fos, v-Myc)] ekleri getirilerek adlandırılmaktadır (35, 37, 42).

Onkogenler, hücre transformasyonunu başlatma ve sürdürme kapasitesine sahiptirler. Hücre siklusunun normal çalışma düzenini bozan onkogenler, yeterli proliferasyon olmayan hücreleri de yok ederek apoptozu de tetiklerler (2, 12, 45). Geçen on yıldan fazla deneysel çalışmalar potansiyel onkogen olarak 30 veya daha fazla onkogeni ayırtmışlardır (v-Sis, v-ErbB, v-kit, Mutant G_s, Ras, Raf, Jun, Fos, Bcl-2 ailesi, p53, Rb geni vb.). Hücresele onkogen aktivasyonuna yol açan genetik olaylar genin yaygın veya uygun olmayan ekspresyonu veya aberrant gen ürününün ekspresyonu ile sonuçlanabilir (38, 46, 47).

Onkogen ve tümör baskılayıcılar üzerinde çalışılması kanserin moleküler kökeninin anlaşılmasında çok etkili olmuştur (46, 10). Normal koşullarda transformasyon oluşturmayan protoonkogenler; delesyonlar, eklentiler, gen amplifikasyonları, nokta mutasyonları, DNA yeniden düzenlenmeleri ve translokasyonlar gibi genetik değişimlerle aktive olarak, onkogen haline dönüşmektedirler. İlk önceleri onkogenler, tümör oluşturan virüsler olarak tanımlanmışlardı. Sonradan onkogenlerin konakçı memelide bulunan hücresel genlerin mutasyona uğramış formları olduğu gösterilmiştir. Bu hücresel genler ilk kez retrovirusların genomunda tanımlanmıştır. Bu retrovirusların genomlarında transformasyona yol açan özel bir dizilim görülmüştür (v-onc), bu dizilim transforme olmayan retrovirus genomlarında bulunmaz. Onkogenler viral enfeksiyonlara da bağlı olabilmektedirler. Retroviral onkogenlerin virüsle enfekte konakçı hücre DNA'sına virüs vasıtasıyla aktarıldığı belirtilmiştir. Virüsün kendi genomuna kopyaladığı protoonkogen enfeksiyonun herhangi bir evresinde, gen kesilmesi veya mutasyonla hasarlı hale gelebilmektedir. Tekrarlayan enfeksiyon sırasında kendi proteinini sentezleyen bu viral onkogenin oluştuğu anormal protein normal hücre büyümesini etkilemekte ve tümör oluşumuna neden olmaktadır (37, 38, 47).

İnsan tümörlerinde en sık gözlenen onkogen anomalisi, ras geni mutasyonudur. İnaktif durumdaki normal ras proteinleri GDP bağlamakta ve hücreler büyüme faktörleri ile uyarıldığında $GDP \rightarrow GTP$ şekline çevrilmektedir. Aktif ras, başta sitoplazmik kinazlar olmak üzere proliferasyon düzenleyicilerini etkilemekte ve böylece çekirdek hücre proliferasyonu için aşırı uyarı almaktadır. Normal ras proteininde kısa süren bu dönemde, intrinsik GTPaz aktivitesi ile GTP hidroliz olmakta ve protein etkisiz şekline çevrilmektedir. Aktif ras proteininin GTPaz aktivitesi, GTPaz aktive eden proteinlerle (GAPs) belirgin olarak artmaktadır. Bu şekilde, kontrolsüz ras aktivasyonundan korunulmaktadır. Mutant ras proteinini GAPs bağlayabilmekte, fakat GTPaz aktivitesini artırılmamaktadır (35, 37, 48, 49) (şekil 4).



Şekil 4. Ras genlerinin etki mekanizması. Normal hücre büyüme faktörü reseptörü yoluyla uyarıldığında, GDP bağlı inaktif Ras GTP bağlanarak aktive edilir. Aktive edilmiş Ras Raf-1'i uyarır ve MAP-kinaz yolunu aktive eder. Mutant Ras proteini GTP'yi hidroliz etme yeteneği sayesinde (herhangi bir dış tetikleyici olmaksızın hücrelerin sürekli uyarılmasına yol açarak) kalıcı olarak aktive edilir (3,37,48,49).

İnsan tümörlerinde en yaygın bulunan myc geni, sinyal ulaştığında hücreyi hızla bölünmeye götürmektedir. Normalde myc düzeyi hücre döngüsü başlamadan hemen önce bazal düzeyine yaklaşmaktadır. Buna karşılık onkogenik myc geninin devamlı salınımı sonucu hücrede sürekli proliferasyon görülmektedir (35, 37, 47).

Bazı genler, üzerinde buldukları kromozom bölgesinden dolayı mutasyonlara eğilimlidirler. Büyüme destekleyen protoonkogenler ve büyümeyi inhibe eden ve büyümenin gerektiği zamanda sınırlandırılmasından sorumlu olan tümör baskılayıcı genler (pRb, p53, p21 proteinlerini sentezleyen genler, CDK inhibitörleri) ve apoptozu denetleyen genler olmak üzere üç sınıf normal regülatör gen bu hasarlanmanın başlıca hedefleri arasındadır (35, 50). Ayrıca DNA onarımından sorumlu genler de kanser oluşumunda hedef genler arasında bulunmaktadır.

Tümör Baskılayıcı Genler

Tümör baskılayıcı genler ve onkogenlerin belirlenmesi, hücre büyümesinin düzenlenmesinin ve kanser oluşum mekanizmasının anlaşılmasına önemli katkılar sağlamıştır. İnsan neoplazmları, tümör baskılayıcı genler ve protoonkogenlere genetik ve epigenetik değişikliklerin progressif birikimini takiben oluşur (32). Tümör baskılayıcı genlerin belirlenmesi yalnız onkogenesinin anlaşılmasına yol açmamış, aynı zamanda mutant gen taşıyıcılarının

presemptomatik olarak tespitinde de yardımcı olmuştur.

Tümör baskılayıcı genler, büyüme inhibitör yolunun değişik bileşenlerini kodlamaktadır. Normalde hücre bölünmesini baskılayan proteinleri kodlayan tümör baskılayıcı genlerin, birinde veya birkaçındaki mutasyon tümör oluşumuna neden olmaktadır.

Protoonkogenlerden onkogenleri oluşturan mutasyonların aksine, tümör baskılayıcı genler onkogenesise fonksiyon kayıpları ile katkıda bulunur. Yine onkogenlerin aksine mutant tümör baskılayıcı genlere bağlı kontrolsüz hücre büyümesi, genetik olarak resesiftir ve etkili olması için her iki kromozom çiftinin de defektif geni içermesi gerekmektedir. Kromozom çiftlerinden biri sağlamsa hastalık ortaya çıkmamakta fakat bu bireyin her hücresinde genin bir hasarlı kopyası bulunmaktadır. pRb, p53 veya p21 proteinini kodlayan genlerin her iki kopyasında bulunan mutasyonun, hücre büyümesinin baskılanmasını engellemesi sonucu tümör oluşmaktadır. Tümör suppressor genler, ilk kez kalıtsal kanserlerde tanımlanmıştır. İlk bulunan kanser baskılayıcı gen, retinoblastoma (Rb) genidir. Rb loküsünde heterozigot olan hücre normaldir ve normal Rb geninde heterozigotluğun kaybı kanser gelişmesine yol açmaktadır. Rb geni normal kopyalarının her ikisinin kaybı ile neoplastik değişim ortaya çıktığı için, bu ve diğer kanser baskılayıcı genler sıklıkla resesif kanser genleri olarak isimlendirilmektedir. Kalıtsal olarak geçen tümör baskılayıcı genlerdeki defektler, çocukluk çağında artmış tümör insidansına yol açabilir. Tümör baskılayıcıları şifreleyen lokusdaki her iki normal allelin kaybı/inaktivasyonu, çocukluk ve erişkin dönem kanserlerini oluşturabilir (37, 38, 51). Rb geni gibi bir mutant p53 alelinin kalıtımla geçmesi kişiyi malign tümör gelişimine duyarlı kılmaktadır. DNA hasarında ilk olarak çekirdekte etkili olan p53 etkili olmaktadır. p21 gen transkripsiyonunun artmasıyla pRb fosforilasyonu oluşmamakta ve hücre G1 fazında bekletilmektedir. Bu durum DNA hasarının onarılması için hücreye zaman kazandırmaktadır. Onarım gerçekleşmezse hücreler apoptozise yönelmektedir. p53 kaybı veya mutasyonu olan hücrelerde ise DNA onarımı gerçekleşmemekte ve hasarlı hücreler proliferasyon olarak tümör dokusu oluşturmaktadır.

Bir çok tümör baskılayıcı gen, farklı dokularda çeşitli mekanizmalar yoluyla görev yapmaktadır. Mekanizmalar hücrenin proliferasyona veya diferansiasyona yönelişi

arasındaki seçimi belirler. Bu belirleyici mekanizmalar ise; DNA replikasyonunun başlangıcı, belli genlerin ekspresyonunun düzenlenmesi, hücrelerin haberleşmesi ve adezyon gibi işlemler ve intrasellüler alıcılara external sinyallerin transdüksiyonudur (25). Bu mekanizmaların daha iyi açıklanması ile onkogenesis ve hücrenin temel işlevlerini daha iyi anlayabilmemiz mümkün olacaktır

DNA Onarım ve Apoptosis Genleri.

İnsan hücreleri DNA hasarını onarabilme yeteneğine sahiptirler. Hücreler, DNA'da çevresel etkiyle ve replikasyon esnasında oluşan spontan hasarların onarılmaması durumunda, neoplastik transformasyona uğramaktadır. DNA onarım genleri, organizmanın diğer genlerdeki (protoonkogen, tümör baskılayıcı gen, apoptoz genleri) onarılması mümkün hasarları onararak, dolaylı olarak hücre proliferasyonunu etkilemektedir. DNA onarım genlerinde işlev kaybı için, her iki alel birden inaktive olmalıdır. Böylece bu genlerin tümör baskılayıcı genler gibi davrandığı düşünülebilir. DNA onarım genlerinde kalıtsal mutasyon olanlarda kanser riski bulunmaktadır.

Yaşamsal işlevini bitiren hücreler programlanmış hücre ölümü (Apoptoz) ile yok edilmektedirler. Hücrede apoptozun düzenlenmesinde sistein proteazlar (kaspazlar; kaspaz-8, 9 ve 3) ve Bcl-2 (kaspaz aktivasyonunu düzenlerler) gen ailesi olmak üzere iki protein ailesi önemli rol oynar. Apoptozu düzenleyen genlerin mutasyonu da kanser oluşumuna yol açmaktadır. Hücrenin yaşaması apoptozu uyaran ve inhibe eden genlere bağlıdır. Bu genler; Bcl-2 (antiapoptotik), Bax ve p53 (apoptotik) genleridir. (38).

Hiç şüphesiz tümör oluşumu, kontrolsüz hücre büyümesinin bir komplikasyonudur. Kanser hücrelerine göre normal hücrelerde büyüme ve diferansiasyonun regülasyonundaki farkın ne olduğu yönündeki çalışmalar, orijinal antikanser terapilerinin gelişmesine yol açmıştır. Kanser moleküler mekanizmalarının daha iyi anlaşılması beraberinde kanserin erken tanısına yeni olanaklar sağlayacak, doğru tanı konması ve sonunda daha etkili tedavi protokollerinin ve yeni antitümöral stratejilerin gelişimine yol açabilecektir. Hücre transformasyonu, metastaz ve angiogenesisinde yer alan genlere karşı, yeni gen terapilerinin planlanması, yeni antikanser ajanların gelişiminde rol alabilir (10, 13, 52).

Epigenetik alanında elde edilen yepyeni bulgular ve klasik kanser tedavileri yerine hücre siklusu ve kanser alanında elde edilen yeni bilgilerin ışığında, yeni ve kişiye özel tedavi yöntemleri tartışılmaya başlanmış ve önümüzdeki yıllarda artarak devam edecektir.

KAYNAKLAR

- 1- Futreal PA, Kasprzyk A, Birney E, Mullikin JC, Wooster R, Stratton M. (2001). Cancer and genomics. *Nature* 6822: 850-2
- 2-Fearnhead HO. (2004). Getting back on track, or what to do when apoptosis is de-railed: recoupling oncogenes to the apoptotic machinery. *Cancer Biol Ther.* 3(1):21-8.
- 3-Williams GM. (2001). Mechanisms of chemical carcinogenesis and application to human cancer risk assessment. *Toxicology*; 14:166 (1-2):3-10.
- 4-Williams GM. (1979). Review of in vitro test systems using DNA damage and repair for screening of chemical carcinogens. *J. Assoc. Official Anal. Chemists* 62: 857-63.
- 5-Williams GM. (1985). Genotoxic and epigenetic carcinogens. In: Homburger F, ed. *Safety Evaluation and Regulation of Chemicals 2. Impact of Regulations-Improvement of Methods.* Basel: Karger. 251-6.
- 6-Williams GM. (1987). DNA reactive and epigenetic carcinogens. In: Barrett JC, ed. *Mechanisms of Environmental Carcinogenesis, Vol 1: Role of Genetic and Epigenetic Changes.* Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. 113-27.
- 7-Williams GM. (1987). Definition of a human cancer hazard. In: *Nongenotoxic Mechanisms in Carcinogenesis.* New York: Banbury Report 25, Cold Spring Harbor Laboratory. 367-80.
- 8-Williams GM. (1992). DNA reactive and epigenetic carcinogens. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 44: 457-64.
- 9-Yokuş B, Çakır DÜ. (202) İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hidroxy-2'-deoxyguanosine. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.*5: 535-43.
- 10- Sahu SC. (1990). Onkogenes, onkogenesis and oxygen radicals. *Biomed Environ Sci* 2: 183-201.
- 11- Heynick L.N, Johnston S.A, Mason P.A. (2003). Radio Frequency Electromagnetic Fields: Cancer, Mutagenesis, and Genotoxicity. *Bioelectromagnetics* S6: 74-100.
- 12- Yokuş B, Mete N. (2003). Oksidatif DNA hasarı. *Klinik Laboratuvar Araştırma Dergisi.* 7(2); 51-64
- 13- Jajte J, Zmyslony M, Palus J, Dziubaltowska E, Rajkowska E. (2001). Protective effect of melatonin against in vitro iron ions and 7 mT 50 Hz magnetic field-induced DNA damage in rat lymphocytes. *Mutat Res.* 483(1-2):57-64.
- 14- Ivancsits S, Diem E, Jahn O, Rudiger HW. (2003). Intermittent extremely low frequency electromagnetic fields cause DNA damage in a dose-dependent way. *Int Arch Occup Environ Health.* 76(6):431-6.
- 15- Yokuş B, Çakır D.Ü, Akdağ.Z, Mete.N, Sert C. (2005). Oxidative DNA Damage in Rats Exposed to Extremely Low Frequency Electro Magnetic Fields. *Free Radical Research.* 39(3): 317-323.
- 16- Yukus B, Akdag M.Z, Dasdag S, Cakir D.U, Kizil M.(2008). Extremely Low Frequency Electromagnetic Fields Cause Oxidative DNA Damage in Rats. *International Journal of Radiation Biology,* 8 (10), 789-795.
- 17- Halliwell B, Aruoma OI. (1991). DNA damage by oxygen-derived species; Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS letters* 281: 9-19.
- 18- Deshpande SS, Irani K. (2002). Oxidant signalling in carcinogenesis: a commentary. *Hum Exp Toxicol* 2: 63-4.
- 19- Williams GM, Jeffrey A. (2000). Oxidative DNA damage: endogenous and chemically induced. *Reg. Pharmacol. Toxicol* 32: 283-92.
- 20- Devereux TR, Risinger JI, Barrett JC. (1999) Mutations and altered expression of the human cancer genes: What they tell us about

- causes. IARC Scientific Publications 146: 19-42.
- 21- Berenblum I: *Frontiers of Biology*. (1974) In: *Carcinogenesis as a Biological Problem*. Amsterdam: North-Holland Pub. Co. New York: 212-24
- 22- Elenbaas L, Spirio F, Koerner MD, Fleming DB, Zimonjic JL, Donaher NC, Popescu WC. (2001). Human breast cancer cells generated by onkogenic transformation of primary mammary epithelial cells. *Genes Dev* 15: 50–65.
- 23- Sherr J. (1996). Cancer cell cycle. *Science* 274: 1672–7.
- 24- Weinstein M. Begemann P. Zhou EK. Han A. Sgambato Y. Doki N. Arber M. Ciaparrone H. Yamamoto H. (1997). Disorders in cell circuitry associated with multistage carcinogenesis: exploitable targets for cancer prevention and therapy. *Clin. Cancer Res*; 3: 2696–702.
- 25- Bos JL. van Kreijl CF. (1992). In: Vainio H, Magee PN, McGregor DB, McMichael AJ. Eds. *Genes and Gene Products that Regulate Proliferation and Differentiation: Critical Targets in Carcinogenesis*. Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification. Lyon: International Agency for Research of Cancer. 57–65.
- 26- Vogelstein A. Kinzler KW. (1993). The multistep nature of cancer. *Trends Genet* 9: 138–41.
- 27- Hussein SP, Harris CC. (1998). Molecular epidemiology of human cancer. *Recent Results Cancer Res* 154: 22–36.
- 28- Weinberg RA. (1995). The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 81: 323–30.
- 29- Nowell P. (1976). The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194: 23–28.
- 30- Butterworth BE. Popp JA. Conolly RB. Goldsworthy TL. Chemically induced cell proliferation in carcinogenesis. In: Vainio H, Magee PN, McGregor DB, McMichael AJ, eds. *Mechanisms of Carcinogenesis in Risk Identification*. Lyon: International Agency for Research of Cancer. 1992: 279–305.
- 31- Foulds L. *Neoplastic Development* 1. (1969). New York: Academic Press, 122-34
- 32- Corn PG., El-Deiry WS. (2002). Derangement of growth and differentiation control in onkogenesis. *Bioessays* 1: 83-90.
- 33- Pucci B, Giordano A. (1999). Cell cycle and cancer. *Clin Ter.* 2:135-41.
- 34- Ho A. Dowdy SF. (2002) Regulation of G₁ cell-cycle progression by onkogenes and tumor suppressor genes. [Current Opinion in Genetics & Development](#) 1: 47-52
- 35- Onat T. Emerk K. Sözmen EY. (2002). İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme yayıncılık 569-75.
- 36- Pediconi N. Ianari A. Costanzo A. Belloni L. Gallo R. et.al. (2003). Differential regulation of E2F1 apoptotic target genes in response to DNA damage. *Nat Cell Biol.* 6:552-8.
- 37- Scriver CR. Beaudet AL, Sly WS., Valle D. (2001). *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill; 613-74.
- 38- Kopnin BP. (2000). Targets of onkogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. *Biochemistry (Mosc)* 1: 2-27.
- 39- Heuvel van den. Harlow E. (1993). Distinct roles for cyclin-dependent kinases in cell cycle control. *Science* 262: 2050–4.
- 40- Weinberg RA. (1995). The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 81: 323–30.
- 41- Brown VD. Phillips RA. Gallie BL. (1999). Cumulative effect of phosphorylation of pRB on regulation of E2F activity. *Mol Cell Biol* 19:3246–56.
- 42- Cotran R. Kumar V. Collins T. (1998). *Robins Pathologic Basis of Disease*. In: *Cellular Pathology I: Cell Injury and Cell Death*. Cellular Pathology, II: Adaptations, Intracellular Accumulations, and Cell Aging.

- Philadelphia: WB Saunders Co. 238-85.
- 43- Ohtsubo M. Theodoras A. Schumacher J. Roberts J. Pagano M. (1995). Human cyclin E, a nuclear protein essential for the G1-to-S phase transition. *Mol Cell Biol* 15: 2612–24.
- 44- Abbas AK. Lichtman AH. (2003). *Cellular and Molecular Immunology*; 5th edition Philadelphia: Saunders Co. 243-74.
- 45- Smith MR. Matthews NT. Jones KA. Kung HF. (1993). Biological actions of onkogenes. *Pharmacol Ther.* 2: 211-36.
- 46- Labazi M, Phillips AC. (2003). Oncogenes as regulators of apoptosis. *Essays Biochem.* 39: 89-104.
- 47- Liu D. Wang LH. (1994). Oncogenes, Protein Tyrosine Kinases, and Signal Transduction. *J Biomed Sci.* 2: 65-82.
- 48- Loeb K.R. Loeb LA. (2000). Significance of multiple mutations in cancer. *Carcinogenesis* 21: 379–85.
- 49- Felsher DW. (2004). Reversibility of oncogene-induced cancer. *Curr Opin Genet Dev.* 14(1):37-42.
- 50- Seemayer TA, Cavenee WK. (1989). Molecular mechanisms of onkogenesis. *Lab Invest.* 5: 585-99.
- 51- Almasan A. Yin Y. Kelly R. Lee E. Bradley A., Li W. Bertino J. Wahl G. (1995). Deficiency of retinoblastoma protein leads to inappropriate S-phase entry, activation of E2F-responsive genes, and apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 5436–40.
- 52- Hughes RM. (2004). Strategies for cancer gene therapy. *J Surg Oncol.* 85(1):28-35.

Yazışma Adresi: Doç. Dr. Beran YOKUŞ

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Biyokimya ABD. 21280 Diyarbakır, Türkiye

Tel: 412. 2488403-04 (8608)

Gsm: 533. 3575421 Fax 412. 2488021

e-mail: bevokus@dicle.edu.tr

bevokus@hotmail.com