

Sirkadiyen saat, hücre döngüsü ve kanser

Circadian clock, cell cycle and cancer

Cansu Özbayer, İrfan Değirmenci

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye.

Geliş Tarihi / Received: 28.05.2011, Kabul Tarihi / Accepted: 06.07.2011

ÖZET

Günlük yaşamımızda etkisi altında kaldığımız birkaç ritim vardır. Bunlardan biri de 24 saatlik zaman birimlerinden meydana gelen belirlenebilir değişiklikler ile karakterize olan sirkadiyen saattir. Bu hücreyel saat hipotalamusun ön kısmındaki suprakiazmatik çekirdek tarafından kontrol edilir. Sirkadiyen saat; *BMAL1*, *CLOCK*, *Cyrtochrome* ve *Period* adı verilen dört gen/proteinden oluşan bir düzenleyici transkripsiyon- translasyon feedback döngüsünden meydana gelmiştir. *CLOCK* ve *BMAL 1* transkripsiyon faktörüdür, *Period* ve *Cyrtochrome*'da bunların hedefidir. *Period* ve *Cyrtochrome* nükleusa girmek için sitoplazmada dimerize olur ve burada *CLOCK/BMAL* aktivitesini inhibe eder. Sirkadiyen saatin hücre çoğalması, DNA hasar ve tamir mekanizmaları, kontrol noktaları, apoptoz ve kanserde önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Hücre döngüsü, kanser, sirkadiyen saat.

GİRİŞ

Günlük yaşamımızda etkisi altında kaldığımız başlıca birkaç ritim vardır. Bunlar ultradiyen, sirkadiyen, infradiyen ve sirkannual ritimlerdir. Günde birden fazla döngüsü olan ritimlere ultradiyen ritimler denir. Sirkannual ritimler yaklaşık bir yıllık ritimlerdir. Bir günden fazla süren, örneğin; haftalar ya da aylar süren ritimler de infradiyen ritimler adını alır. Sirkadiyen ritimler ise yaklaşık bir gün sürer (Latince: circa=yaklaşık, dies=gün).¹⁻⁴ Bunlardan en önemlisi beynimizde ön hipotalamusta yerleşmiş olan suprakiazmatik çekirdeğin (SCN) kontrolündeki sirkadiyen ritimidir. Sirkadiyen ritim, biyolojik saat olarak da adlandırılır ve 24 saatlik bir zaman ölçeği üzerinde belirlenebilen değişiklikler ile karakterizedir. Bu saat aynı zamanda organizmanın

ABSTRACT

There are a few rhythms of our daily lives that we are under the influence. One of them is characterized by predictable changes over a 24-hour timescale called circadian clock. This cellular clock is coordinated by the suprachiasmatic nucleus in the anterior hypothalamus. The clock consist of an autoregulatory transcription-translation feedback loop compose of four genes/proteins; *BMAL1*, *Clock*, *Cyrtochrome*, and *Period*. *BMAL 1* and *Clock* are transcriptional factors and *Period* and *Cyrtochrome* are their targets. *Period* and *Cyrtochrome* dimerize in the cytoplasm to enter the nucleus where they inhibit *Clock/BMAL* activity.

It has been demonstrate that circadian clock plays an important role cellular proliferation, DNA damage and repair mechanisms, checkpoints, apoptosis and cancer.

Key words: Cancer, cell cycle, circadian clock

çevreye uyumuna yardım eder ve uyku-uyanıklık düzeninin ayarlanmasından sorumludur.⁵⁻¹⁰

Retinaya ışık gelmesi ile “retinohipotalamik yol” adı verilen bir sinir demeti üzerinden SCN aktive olur. Ayrıca, retinadan SCN’ ye dolaylı bir yol da bulunmaktadır. Bu yol, optik sinirlere giden görme uyarılarının genikulat çekirdek adı verilen bölgelerdeki nöron ağları tarafından SCN’ ye yönlendirilmesi sayesinde oluşur. Bu yollarla retinadaki ışık durumundan haberdar edilen SCN, diğer beyin bölgelerini uyararak canlının vücut ritimlerinin düzenlenmesini sağlar.^{11,12} Sirkadiyen ritimler hücre döngüsü proteinlerini, büyüme faktörlerini, pıhtılaşma faktörlerini, immün fonksiyonları ve birçok genin ekspresyonunu düzenlemektedir.² Sirkadiyen mekanizmalar doku büyümesi, kan basıncının kontrolü, kalp atımı ve kan şekerinin düzenlenmesi gibi

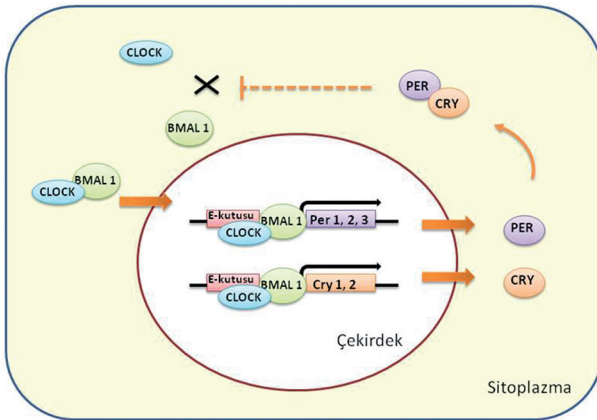
Yazışma Adresi /Correspondence: Dr. İrfan Değirmenci

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD, Eskişehir, Türkiye Email: irfand@ogu.edu.tr
Copyright © Dicle Tıp Dergisi 2011, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

önemli fizyolojik işlemler ile doku homeostazında kritik rolü olan hücresel yollarda önemli yere sahiptir.^{4,5,13}

Sirkadiyen Saat Genleri

Sirkadiyen saat ile ilgili mekanizmalar hücre döngüsü, DNA hasarına cevap ve tümör baskılanması açısından son derece önemlidir.¹³ Moleküler düzeyde sirkadiyen saatler, transkripsiyon-translasyon düzenleyici sistemde organize olan “saat genleri”nin ürünlerinden oluşur. Bazı saat genleri transkripsiyonal aktivatörleri kodlarken bazıları da kendi ekspresyonlarını inhibe edebilecek proteinleri kodlar.^{8,13} Moleküler ritimler transkripsiyon sonrası düzenleme, transkripsiyon sonrası değişiklikler, kromatin yeniden düzenlenmesi, hücre içi yerleşim ve saat proteinleri yoluyla hassas bir şekilde düzenlenir.¹³



Şekil 1. CLOCK/BMAL1 heterodimeri kendi düzenleyici bölgelerindeki E kutuları ile hücre döngüsü genleri ve saat genlerini transkripsiyonel olarak aktive eder.

Sirkadiyen ritmin arkasındaki temel moleküler mekanizmalar da bu saat genlerinden meydana gelir. Bu genler iki transkripsiyon faktöründen (CLOCK ve BMAL1) ve bunların hedefleri olan Period (Per 1, 2, ve 3), Cryptochrome (Cry 1 ve Cry 2) genlerinden meydana gelir.^{4,5,9,14} CLOCK (circadian locomotor output cycles kaput) bir histon asetil transferaz olup BMAL 1 (brain and muscle arly hydrocarbon receptor nuclear antigen 1) ile heterodimerize olduğunda aktive olur. Böylece Per 1, 2, 3 ve Cry 1, Cry 2 gibi diğer saat genlerinin transkripsiyonu sağlanır.^{8,10,13,14} Per proteinleri ardı ardına iki PAS bölgesi içerir ve bu bölgeler aracılığı ile bir diğeri

ve diğer proteinler ile etkileşebilir (Tablo 1). Per 3 saat kontrolü altındadır fakat ritim üretimi için gerekli değildir. Bununla birlikte Per 1 ve Per 2 saatin merkezi bileşenleridir.¹³ PER ve CRY proteinleri sitoplazmada sentezlenir ve çekirdeğe girmeden önce birleşirler. Burada CLOCK/BMAL1 aktivitesini inhibe eder ve böylece kendi ekspresyonlarını inhibe etmiş olurlar (negatif feedback).^{4,5,8,-10,13,14} Aynı zamanda PER proteinleri BMAL1'in transkripsiyonunu ilerletmek için pozitif yönde hareket ederler. BMAL1, CLOCK-BMAL1 heterodimerizasyonunu sağlayarak döngünün yeniden başlamasını sağlar (Şekil 1, Tablo 1).¹³

Sirkadiyen Saat ve Hücre Döngüsü

Sirkadiyen kontrol ve hücre döngüsü farklı moleküler mekanizmalardan oluşmalarına rağmen, memelilerde bu iki döngü birbiri ile ilişkilidir. Sirkadiyen saat mutasyonları önemli hücre döngüsü düzenleyicilerinin ekspresyonunu değiştirebilir. Bu nedenle sirkadiyen saatin hücre bölünmesinin düzenlenmesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir.³ Hücre döngüsü ve sirkadiyen saat genellikle tüm organizmaların düzenleyici sistemleridir. Her ikisi de transkripsiyon-translasyon, protein modifikasyonu ve yıkım evrelerinden oluşan hücre içi “saatler”dir.^{3,8} Benzer şekilde her iki döngü de çoğu hücrelerde 24 saat için periyodik olup hücreye özgüdürler. Gap1 (G1), DNA sentezi (S), Gap2 (G2), Gap1(G1) veya G0'da duran mitoz (M) aşamalarından oluşan hücre döngüsünün aksine sirkadiyen döngüde yer alan saat genlerinin ekspresyonu her hücrede devamlıdır ve durup yeniden başlamak için karaciğer yenilenmesi gibi belirli bir tetikleyiciye ihtiyaç duyar.³ G2/M geçişi, Cdk 2/siklin B kompleksi tarafından kontrol edilir ve hücre döngüsü için önemli bir noktadır. G2'den M fazına kadar hücre döngüsünün diğer bir düzenleyicisi weel'dir. Sirkadiyen saat genleri, CLOCK/BMAL1'in weel geninin promotöründeki E-kutusu'na direkt olarak bağlanması ile weel geninin ekspresyonunu düzenler ve böylelikle karaciğer yenilenmesi gibi durumlarda hücre döngüsünü başlatabilir (Şekil 2).^{3,4,8} G1 fazının ilerlemesi bir siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p21'in de kontrolü altındadır. p21'i hedefleyen REV-ERB yolağının da sirkadiyen kontrol altında olabileceği belirtilmektedir.¹⁵ Rev-erb α/β bir başka saat kontrollü genidir ve protein ürünü Bmal1'in ekspresyonunu negatif olarak düzenler. REV-ERB α/β , G1-S hücre döngüsü inhibitörü p21'in ekspresyonunu direkt olarak inhi-

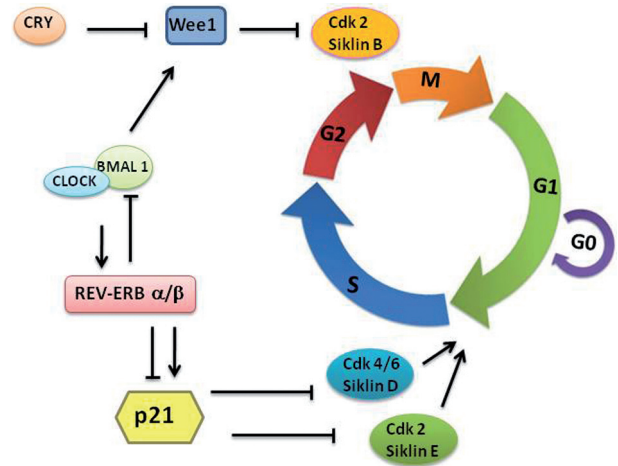
be edebilir. Bununla birlikte, saç germ hücrelerinde BMAL1'in yokluğu Rev-erb α/β 'nin aşağı düzenlenmesine, p21 ekspresyonunun artmasına ve dönünün G1 de durmasına neden olur (Şekil 2).¹⁶

Tablo 1. Sirkadiyen saat genleri: görevleri, ürünleri ve düzenlenmesi.

Gen	Saat görevi	Protein ürünü	Düzenlenmesi
Per 1	PER/ CRY etkileşimi, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü	Diğer memeli PER proteinleriyle etkileşime aracılık eden PAS bölgeleri içerir.	Retina ve periferal dokuda geçici olarak ışık tarafından indüklenir.
Per 2	PER/ CRY etkileşimi, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü,	Diğer memeli PER proteinleriyle etkileşime aracılık eden PAS bölgeleri içerir.	Retina ve periferal dokuda geçici olarak ışık tarafından indüklenir.
Per 3	PER/ CRY etkileşimi	Diğer memeli PER proteinleriyle etkileşime aracılık eden PAS bölgeleri içerir.	Retina ve periferal dokuda ritmik olarak eksprese olmuyor veya haftalık ritmik.
Cry 1	PER lerle etkileşim, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü	Flavoprotein	Böceklerde ve bitkilerde ışık/karanlık seviyesine göre eksprese olur. İnsan CRY sentezi ışık tarafından düzenleniyor olabilir.
Cry 2	PER lerle etkileşim, CLOCK/ BMAL1 inhibitörü	Flavoprotein	Böceklerde ve bitkilerde ışık/karanlık seviyesine göre eksprese olur. İnsan CRY sentezi ışık tarafından düzenleniyor olabilir.
Tim	PER ile dimerize olmak	TİM	Ritmik olarak eksprese oluyor.
Clock	Transkripsiyon faktörü	Transkripsiyon faktörü: BMAL1 ile heterodimerizasyona aracılık eden PAS bölgesi içerir.	Ritmik olarak eksprese olmuyor.
Bmal1 (mop3)	Transkripsiyon faktörü	Transkripsiyon faktörü: CLOCK ile heterodimerizasyona aracılık eden PAS bölgesi içerir.	Sıçanlarda ritmik olarak eksprese oluyor; farede ritmik olmayabilir.

Tablo 2. İnsan kanser tiplerindeki saat genlerin ekspresyonları.¹⁹

Kanser tipi	Saat geni	mRNA ekspresyonu
Meme kanseri	Per1	↓
Ailesel-sporadik meme kanseri	Per1, Per2	↓
Akciğer kanseri	Per1	↓
Kolon kanseri	Per1, Per2 ve Clock	↓
Pankreas kanseri	Per1, Dec1	↓
Endometrium kanseri	Per1	↓
Kronik miyeloid lösemi	Per1, Per2, Per3	↓
Akut miyeloid lösemi	Per2	↓



Şekil 2: Hücre döngüsü ve sirkadiyen saat arasındaki çoklu bağlantı. Wee1 ve siklin D gibi proliferasyonu düzenleyen çeşitli hücre döngüsü proteinleri sirkadiyen düzenleme altındadır.

Wee1 kinazı kodlayan genin aktivasyonu ile Cdk2/siklin B1 kompleksi fosforilasyona uğrar ve G2-M geçişi kontrolü sağlanır. Diğer iki sirkadiyen proteini olan Tim ve Per 1, DNA hasarına cevapta görev alır çünkü her ikisi de ATM ve ATR (ATM, mutant ataksi telenjektazi; ATR, Rad3-ilişkili ataksi telenjektazi) kinazlar ve kontrol noktası kinazları Chk (checkpoint kinases) 1 ve 2 ile kompleks halinde bulunabilir.⁸ Sağlıklı bireylerde kemik iliği, barsak, cilt ve ağız mukozasındaki hücrelerin S-fazındaki sayısı her 24 saatlik dönemde % 50 veya daha fazla oranda değişir. Benzer değişiklikler insan ağız mukozasındaki p53, siklin E, siklin A ve siklin B1 ekspresyonunda da belirlenmiştir. Siklin E diğer değişkenlerden neredeyse iki kat daha fazla sirkadiyen düzenlenmeden etkilenir ve böylelikle G1-S kontrol noktasının sirkadiyen olarak düzenlenmesini sağlar.² Per1 geni önemli bir saat faktördür ve sirkadiyen ritimler için önemli bir rol oynar. Hücre bölünmesi için kritik öneme sahip biyolojik yollar sirkadiyen kontrol altındadır ve Per 1, sirkadiyen sistem ile hücre döngüsü sistemi arasında önemli bir bağlantı sağlar.^{4,6}

Sirkadiyen Saat ve Kanser

Hücreler anormal olarak çoğaldıklarında ve apoptoz fonksiyonlarını kaybettiklerinde genellikle kanserleşirler. Günümüzde kanser tanı ve tedavisindeki moleküler yollar büyük önem kazanmıştır. Bu moleküler yollarda rol alan mikroRNAlar gibi anahtar moleküllerin ve sirkadiyen saat gibi düzenleyici mekanizmaların kanser gelişimi üzerine etkileri olduğu belirlenmiştir.^{2, 3, 17}

Hücre döngüsü, DNA hasarına cevap ve tümör baskılanması gibi önemli biyolojik yollar sirkadiyen kontrol altındadır.¹¹ Sirkadiyen saat gen ürünlerinin kanser oluşumunda negatif düzenleyici olarak rolleri vardır ve çeşitli kanser tiplerinde bazı saat genlerinin ekspresyonları değişmektedir (Tablo 2).^{2-4,6,13,18,19}

c-Myc, siklin D1, siklin A ve wee1 gibi anahtar hücre döngüsü düzenleyicileri sirkadiyen saat tarafından kontrol edilen genlerdendir. Fonksiyonel Per 2'ye sahip olmayan mutant farelerde bu genlerin ekspresyonları bozulmaktadır.^{13,20} Farelerde suprakiazmatik çekirdeğin kesilip çıkartılması, implante osteosarkom ve pankreas adenokarsinomu tümör hücrelerinin büyümesini hızlandırmıştır.¹⁸ Per 2 mutant fareler artmış ışına maruz bırakıldık-

larında, radyasyon tarafından indüklenen lenfoma sebebiyle erken ölmüşlerdir. Bunun nedeni Per 2 mutasyonunun c-Myc ekspresyonunu artırması ve p53 ekspresyonunu azaltmasıdır. İn vivo ve in vitro çalışmalarda, Per 2 ekspresyonunun azalması meme kanseri hücrelerinde siklin D ve E artışına ve tümör büyümesine neden olmuştur.¹³ Yine Per 2 mutantlarda gamma ışınına ve tümör oluşumuna duyarlılık saptanmıştır.^{3,4,6,8,9} Sonuç olarak, Per 2 mutant fareler ile yapılan çalışmalarda, Per2'nin DNA hasar yolunu düzenleyerek tümör baskılanmasında görev yaptığı belirlenmiştir.^{4,13, 20} Önemli bir sirkadiyen gen olan Per1 de, insan kanser hücrelerinde büyüme ve DNA hasarı kontrolünde rol oynar. Sirkadiyen saat faktörleri hücre döngüsü ilişkili genlerin transkripsiyonu ve hücre döngüsü kontrol noktası yolağı ile direkt etkileşim ile tümör baskılanmasında görev alabilir.^{4,6} Per 1'in radyasyonun indüklediği apoptozda önemli rolü olduğu bildirilmiştir. Per1, c-Myc onkoproteininin artması ve p21'in baskılanması yoluyla DNA hasarını indükleyerek, hücreleri apoptoza duyarlı hale getirebilir.^{4,6,8} Bununla birlikte, Per1 yolu ile siklin B1 ve cdc2'nin ekspresyonunun azalması p53'e bağımlıdır.⁴ Per1 büyüme ve DNA hasarına cevabı etkiler ve bu nedenle bu genin kanser gelişiminde etkili olabileceği belirtilmiştir. Per 1 potansiyel bir tümör baskılayıcı genidir. Bunun aşağı düzenlenmesi, çeşitli kanser türlerinin oluşumu ve tümörögeneziste önemli role sahiptir (Tablo 2).^{4,8,13,20}

Meme, over ve kolorektal kanserli hastalarda sirkadiyen ritim değişiklikleri bulunmuş ve bunun genellikle tümör artışı ve/veya genel durumun kötüleşmesi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan son çalışmalarda, performansı iyi olan kolorektal veya meme kanserli hastalarda sirkadiyen ritim değişiklikleri gözlenmiş ve bunun sağkalım için bağımsız bir prognostik belirleyici olduğu düşünülmüştür.² Epidemiyolojik çalışmalarda, insanlarda sistemik bir tümör baskılayıcı olarak da görev yapan sirkadiyen saatin, gece vardiyasında çalışan kadınların meme ve kolon kanserine yakalanma riskini artırabileceği bulunmuştur.^{4,6,18} Pankreas kanserinde de sirkadiyen ilişkili birkaç genin ekspresyonunun azaldığı ve pankreatik tümörlerde sirkadiyen ritmin bozulduğu belirlenmiştir.¹⁸ Başka bir çalışmada CLOCK/BMAL1 aktivitesinin kemoterapi süresince oluşan genotoksik stres etkilerini düzenlediği bildirilmiştir. Bu da saat genlerinin stres oluşumu ve hissedilmesi üzerine rolü olduğunu göstermektedir.^{3,7,9} Yapılan

araştırmalarda tümör hücreleri enjekte edilmiş farelerde, büyüme faktörü genlerinin olağan dışı bir şekilde ritmik olarak ekspresye olduğu gözlenmiştir. İmplant edilmiş sarkoma hücrelerindeki vasküler endotelial faktörlerin (VEGF) sirkadiyen ritminde alışılmadık bir ekspresyon artışı gözlenirken normal dokularda VEGF'in ritmik ekspresyonunda anlamlı bir değişiklik belirlenmemiştir.³ Ayrıca, sirkadiyen saat tarafından kontrol edilen tükürük kortizol seviyeleri göğüs kanserli hastaların hayatta kalma zamanı için istatistiksel olarak anlamlı bir belirleyicidir.¹⁸

Sonuç

Biyolojik ritmimizi oluşturan sirkadiyen saat gen ve gen ürünleri metabolizma için önemli fizyolojik yollarda kritik role sahiptir. Hücre döngüsü ile sirkadiyen ritim etkileşim halindedir ve sirkadiyen saat gen ürünleri hücre döngüsünün kontrolünde yer alır.

Sirkadiyen saatin moleküler temelleri DNA hasarı, apoptoz ve kanser mekanizmalarında önemli yere sahiptir. Bu nedenle sirkadiyen sistem fonksiyon bozuklukları ve kanser gelişimi arasındaki ilişkinin belirlenmesi, kanser tanı ve tedavisi için önem arz etmektedir.

Sirkadiyen ritmin bozulması sonucu, ritim etkisi ile hücre döngüsünde görev alan gen ürünlerinin ekspresyonları değişir ve bu nedenle sirkadiyen sistem fonksiyon bozuklukları ve kanser gelişimi ile sonuçlanan durumların ortaya çıkması olasıdır.

KAYNAKLAR

- Okamura H. Circadian and seasonal rhythms: Integration of mammalian circadian clock signals from molecule to behavior. *J Endocrinol* 2003; 177(1): 3-6.
- Lévi F. Circadian chronotherapy for human cancers. *Lancet Oncol.* 2001;2(5):307-15.
- Ishida N. Circadian clock, cancer and lipid metabolism. *Neurosci Res.* 2007;57(4):483-90.
- Gery S, Komatsu N, Baldjyan L, Yu A, Koo D, Koeffler HP. The circadian gene *per1* plays an important role in cell growth and DNA damage control in human cancer cells. *Mol Cell* 2006;22(3):375-82.
- Hastings M, O'Neill JS, Maywood ES.: Circadian clocks: regulators of endocrine and metabolic rhythms. *J Endocrinol* 2007;195(2):187-98.
- Walisser JA, Bradfield CA. A time to divide: does the circadian clock control cell cycle? *Dev Cell* 2006;10(5):539-40.
- Dunlap JC. Molecular bases for circadian clocks. *Cell.* 1999 Jan 22;96(2):271-90.
- Hunt T, Sassone-Corsi P. Riding tandem: circadian clocks and the cell cycle. *Cell* 2007;4;129(3):461-4.
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Kang TH, Reardon JT, Lee JH, Ozturk N. Circadian clock control of the cellular response to DNA damage. *FEBS Lett* 2010;584(12):2618-25.
- Kondratov RV. A role of the circadian system and circadian proteins in aging. *Ageing Res Rev* 2007;6(1):12-27.
- Çalıyurt O. Duygudurum bozuklukları ve biyolojik ritim. *Duygudurum Dizisi* 2001; (5):209-14.
- Schibler U. The daily rhythms of genes, cells and organs. *EMBO reports* 2005;6(S1): 9-13.
- Beckett M, Roden LC. Mechanisms by which circadian rhythm disruption may lead to cancer. *South African J Sci* 2009;10: 415-20.
- Lamont EW, James FO, Boivin DB, Cermakian N. From circadian clock gene expression to pathologies. *Sleep Med* 2007;8(6):547-56.
- Grechez-Cassiau A, Rayet B, Guillaumond F, Teboul M, Delaunay F. The Circadian Clock Component BMAL1 Is a Critical Regulator of p21WAF1/CIP1 Expression and Hepatocyte Proliferation *J Biol Chem* 2008; 283(8):4535-42.
- Geyfman M, Andersen B. Clock genes, hair growth and aging. *Ageing* 2010;2(3):122-8.
- Saydam F, Degirmenci I, Gunes HV. MicroRNAs and cancer. *Dicle Medical Journal* 2011; 38 (1): 113-20.
- Pogue-Geile KL, Lyons-Weiler J, Whitcomb DC. Molecular overlap of fly circadian rhythms and human pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2006;243(1):55-7.
- Ozturk N, Okyar A. Biyolojik saatin moleküler mekanizmaları. *Türk Farmakoloji Derneği Bülteni* 2010; 106(1): 16-8.
- Yang X, Wood PA, Ansell CM, et al. The circadian clock gene *Per1* suppresses cancer cell proliferation and tumor growth at specific times of day. *Chronobiol Int.* 2009;26(7):1323-39.