

# ONKOLOJİK TANIDA GÜNCEL YAKLAŞIM: APOPTOTİK MARKERLERİN POTENSİYEL ROLÜ

Mine KUCUR \*

## Apoptozis ve Kanser

Apoptozis veya Programlanmış Hücre Ölümü, "genetik hücrel intihar programının aktivasyonu" olup, hücrel ölüm ile sonuçlanır. Bu prosede iki önemli basamak vardır. Birincisi; membranda kabarcıkların oluştuğu, hücre büzülmesi ve kromozomal kondensasyonu takiben oluşan kromozomal fragmentasyon gibi belirgin morfolojik değişikliklerin meydana gelmesidir. İkincisi ise sınırlı lokal immun cevap ile sonuçlanan ölü hücre artıklarının fagositozudur.

Organların fonksiyonlarının devamlılığı açısından hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasındaki homeostaz kritik bir rol oynar. Bu denge; immunotolerans, onarım ve yaşlanma prosesleri sırasında fizyolojik olarak değişmektedir. Hücre proliferasyonu ve ölümü arasındaki dengesizlik hücrelerin apoptozis'e karşı direnç oluşturmalarına ve proliferasyon olarak klonal genişleme sonucu malign oluşumlara yol açmaktadır. Karsinogenezisde öncelikle hücre ölüm hücre proliferasyonuna paralel olarak artmaktadır. Hücre ölüm mekanizmaları bozulduğunda tümör büyümeye başlayarak etrafındaki lokal yapıları invaze eder. Anjiyogenezis tümör proliferasyon hızını etkilemektedir.

Malign tümörlü olgularda uygulanan terapötik stratejilerin amacı proliferasyon ve dejenerasyon arasındaki dengeyi tekrar sağlanmasıdır. Kemoterapötik ajanların yol açtığı hücre hasarı, normal hücre siklusunun durması, onarım mekanizmalarının yetersiz olması ve aktif apoptotik hücre ölümünün indüklenmesidir. Hücre ölümü ve proliferasyonu ile ilgili markerlerin tayini karinogenezis prosesi ve antitümör tedavisine karşı verilen cevabın etkinliği ile ilgili bilgi verir. Normal fizyolojik koşullar altında gelişen apoptozis sonrası oluşan hücre ölümü ile ortamdaki hücre artıkları makrofajlar ve komşu hücreler tarafından uzaklaştırılır. Malign durumlarda bu denge bozulur ve hücre artıkları dolaşımda birikmeye başlar. Kanda bu maddelerin tayini tanı, prognoz ve takipte faydalı olabilir.

## Apoptotik Markerler

Hücre yüzeyindeki reseptörler "ölüm sinyali"ni algılar ve hücre membranı boyunca geçirir. Bu reseptörlerin çoğunluğu TNF-ailesinin üyesi olup, Fas/Apo1/CD95-reseptör, THF-reseptör 1, DR3, DR4 ve DR5'dir. Bu reseptörlere spesifik ligandlar ve uyarıcı antikorlar bağlanarak aktive ederler. Böylece hücre içi proteinler ölüm domainleri ile birleşerek "ölümü indükleyen sinyal kompleksi"ni (DISC) oluştururlar.

Başlatıcı prokaspazlardan olan prokaspaz-8 DISC'ye bağlanarak otokatalitik olarak aktif forma dönüşür. Diğer proteazların proteolitik aktivasyonu sonrasında sinyal, efektör kaspazlara ulaşır. Bunlar hücrede önceden tanımlanmış moleküllere saldırarak biyolojik ve morfolojik apoptozis değişikliklerine yol açarlar. Bunun yanısıra alternatif bir yol olarak hücre ölüm sinyali, kaspaz-8 ve Bid (BH3- sadece Bcl-2 ailesinden bir molekül) tarafından indüklenen bir mitokondriyal amplifikasyon lupu tarafından artırılabilir. Mitokondriden sitokrom c açığa çıkar. Bu, sitoplazmada Apoptozisi aktive edici faktör (APAF-1), TP ve prokaspaz-9 ile birlikte apoptozomu oluşturur. Bu kompleks kaspaz-3 ve -8 gibi bazı proteolitik enzimleri aktive eder (Şekil 1). Kaspazlar; hücre iskeletinde ve nükleer membranda bulunan aktin, sitokeratin ve lamin gibi yapısal komponentleri parçalarlar. Ayrıca, genomik ve protein düzeyinde çeşitli biyokimyasal değişiklikleri indükleyerek hücre yıkımını hızlandırır.

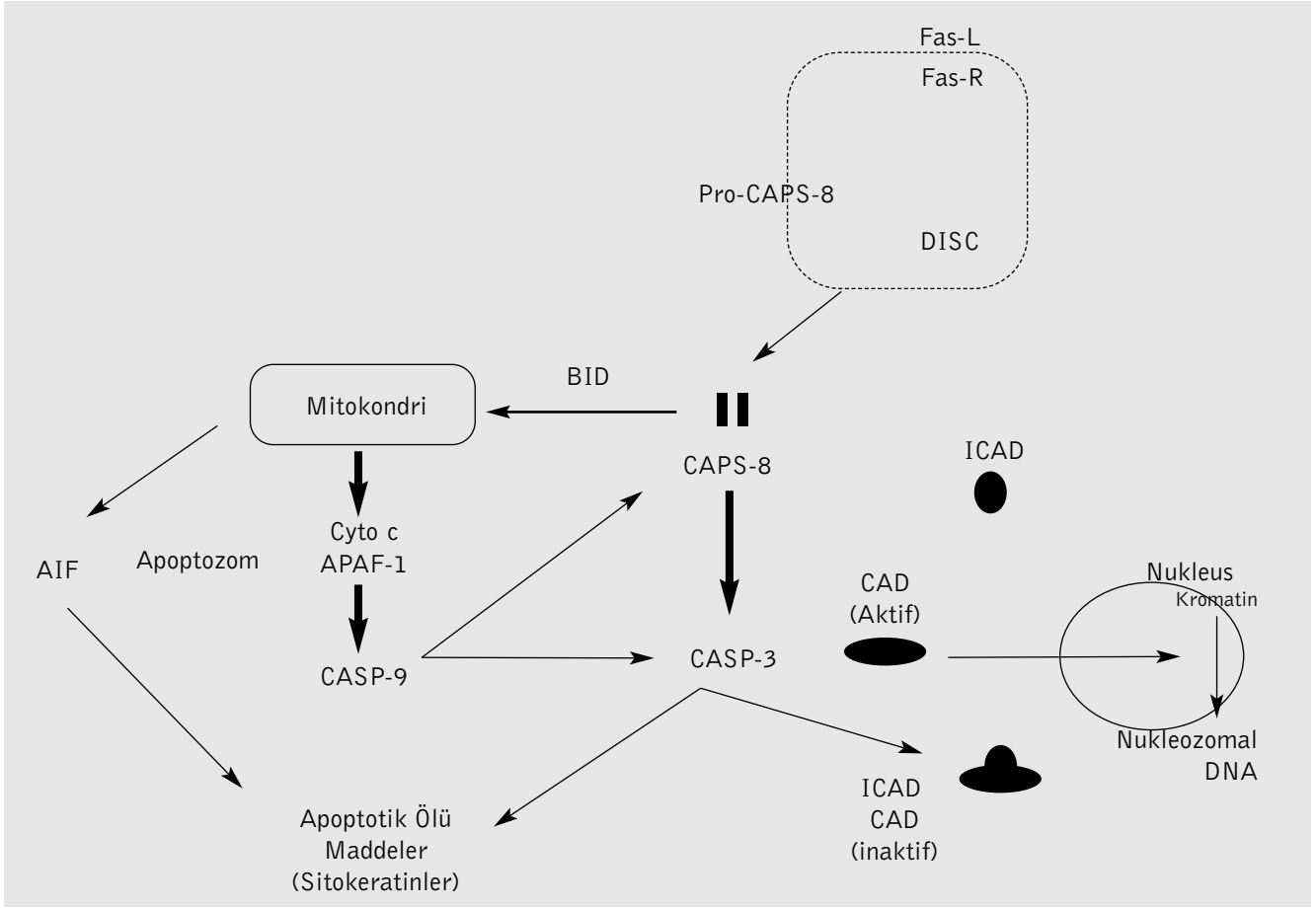
Apoptozis sırasında ölü hücreye ait ürünler dolaşıma geçer ve hem serum hem de plazmada saptanabilirler. Kanser olgularında en sık araştırılan markerler arasında apoptozis reseptörlerin çözünebilir formları, sFas ve bunun ligandı olan FasL, çeşitli sitokeratinler ve dolaşımdaki DNA fragmentleri yer alır. Bu parametrelerin dolaşımdaki miktarı organa veya hücre ölümüne spesifik olmamakla birlikte tayinlerinin kolay olması nedeniyle tanıda, prognozda, tedavinin izlenmesinde ve hastalığın nüksünün saptanmasında faydalı olabileceği öne sürülmektedir.

## Tanıda Apoptotik Markerler

Tümör markerlerinin tarama amaçlı kullanılabilmesi için, bu parametreler ile spesifik olmayan bulgular gösteren bireyler arasından tümör olgularının saptanabilmesi gerekmektedir. Yalancı pozitif ve negatif sonuçların azaltılması için kanser tarama parametrelerinin sensitivite ile organ ve tümöre spesifliklerinin yüksek olması gerekir. Apoptotik markerler organa veya tümöre spesifik olmadıklarından kandaki konsantrasyonları farklı malign hastalıklarda benzer düzeylerde bulunabilir. Bununla birlikte her ne kadar bazı markerlerin düzeyleri tümörün safhasına bağlı olarak anlamlı farklılıklar gösterse de bir kanser olgusunun evrelendirilmesinin yapılmasında bu markerlerin faydası sınırlıdır.

Yapılan çeşitli araştırmalarda, sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında bazı kanser tiplerinde antiapoptotik fas-resep-

\* İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Biokimya Merkez Laboratuvarı



Şekil 1. Reseptör aktivasyonu, DISC (ölümün indüklediği sinyal kompleksi) oluşumu, caspase-8 gibi başlangıç kaspaşlarının aktivasyonu ve caspas-3 gibi efektör kaspaşlarının inaktivasyonunu özetlediği apoptotik yolların şeması. Doğrudan caspas kaskadına girmeden alternatif olarak mitokondrial sitokrom c'nin salınımı ve apoptozom'da caspas-9'un aktivasyonu veya apoptozu indükleyici faktör AIF'nin salınımı ile oluşan sinyal artırılabilir.

tör'ün çözünebilir formunun (sFas) ve proapoptotik Fas ligandının (FasL) arttığı gösterilmiştir. Bazı tümörlerde sFas ve sFasL'nin tümörün safhası ve hastalığın ilerlemesiyle korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Sitokeratin fragmanları içerisinde CYFRA 21-1 (sitokeratin 19-fragmanları) en sık kullanılan molekül olup, bunu sırasıyla; doku polipeptidinde özgü antijen (TPS, sitokeratin 18-fragmanları) ve doku polipeptid antijen (TPA, sitokeratin 8-, 18-, ve 19-fragmanları) izler. Bu moleküller, küçük hücreli akciğer kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mesane, servikal, nazofarengeal, özofagus, gastrik, kolanjiyoselüler, karaciğer, kolorektal, meme ve over kanseri gibi çeşitli kanser türlerinde artmakta ve tümör safhası ile korelasyon göstermektedir. Yüksek CYFRA 21-1 düzeyleri skuamöz hücre kanserleri için kısmen spesifik olup, şüpheli akciğer ve mesane kitlelerinin ayırıcı tanısında faydalı olabilir.

Apoptozis sırasında endonükleotik kromatin yıkımının bir ürünü olan nukleozomal DNA fragmanları DNA ve histon protein içerikleri ile serum ve plazmada daha ileri düzeyde sindirilemezler. Akciğer, gastrointestinal, kolorektal, meme, jinekolojik, böbrek, nazofarengeal kanserler ve lenfoma gibi çoğu malign tümörde dolaşımdaki DNA fragman düzeylerinin arttığı gösterilmiştir. Buna rağmen bu fragmanların tanıda değeri sınırlıdır. Bunun nedeni hücresel

turnover artışına yol açan malign olmayan durumlarda da dolaşımda DNA fragmanları artar. Karakteristik mutasyonların ve epigenetik değişikliklerin tesbitine yönelik kalitatif araştırmalar tümör DNA'sına spesifikliği artırarak kanser tanısı için önemli bir güç oluşturur.

#### Prognoz Takibinde Apoptotik Markerler

Apoptotik markerler, tümöre ve organa spesifik olmamakla birlikte kanser olgularında prognostik takibinde potansiyel olarak kullanılabilirler (Tablo 1). Yüksek sFas düzeylerinin, meme kanseri, jinekolojik kanserler, melanom, böbrek kanseri, non Hodgkin Lenfoma olgularında kötü prognostik ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yüksek sFas değerleri meme kanseri, over kanseri, mesane kanseri ve melanomda PFS (Progression-free survival) ile ilişkilidir. sFasL'nin mesane kanserinde PFS için prognostik bilgi sağladığı gösterilmiştir. sFas meme kanseri, jinekolojik kanserler, melanom, böbrek kanseri, non Hodgkin Lenfoma için bağımsız bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir. CYFRA 21-1 küçük hücreli akciğer kanseri, küçük hücreli olmayan akciğer kanseri, mezotelyoma, özofagus kanseri ve servikal kanser için bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir. Özellikle meme, over ve akciğer kanserlerinde TPS ve TPA potansiyel prognostik faktörler ola-

Tablo 1. Dolaşımdaki apoptotik markerler olan sFas (çözülebilir Fas-reseptörü), sFasL (Fas ligand), CYFRA 21-1 (sitokeratin 19-fragmanları), TPA (doku polipeptid antijeni), TPS (doku polipeptid-spesifik antijen) ve nukleosomal DNA fragmanları'nın onkolojik tanıda potansiyel rolleri (- düşük potansiyel; + orta düzeyde potansiyel; ++ iyi potansiyel; +++ çok iyi potansiyel)

Parametre	sFas	sFasL	CYFRA 21-1	TPA	TPS	DNA fragmanları
Tarama	-	-	-	-	-	-
Tanı	-	-	-	-	-	-
Ayırıcı Tanı	-	-	+	-	-	-
Evreleme	+	+	+	+	+	+
Prognoz	+	+	++	+	+	+
Tedavinin İzlenmesi			+++	+		++
Tedaviye cevabın erken dönemde gözlenmesi			++			+++
Hastalığın nüksünün saptanması			++	+		+

rak kabul edilmektedir. Dolaşımdaki DNA fragmanları da akciğer kanseri, meme kanseri, nazofarengeal kanser ve lenfoma için prognostik açıdan anlamlılık taşımaktadır.

#### Tedavinin İzlenmesi

Marker düzeylerinde hızlı bir düşüş terapötik etkinliği gösterirken, hafif bir azalma veya artış yetersiz cevap ile ilişkilidir. Akciğer, başve boyun, servikal kanserli olgularda CYFRA 21-1, meme, over, akciğer, kolorektal ve mesane kanserinde TPS ve TPA markerleri terapötik etkinliğinin değerlendirilmesinde klinisyene yardımcı olur. Dolaşımdaki DNA fragmanları da akciğer, nazofarengeal, kolorektal, meme, servikal kanserler ve lenfoma'da tedavinin izlenmesinde potansiyel marker olarak kabul edilmektedir.

#### Tedaviye Cevabın Erken Dönemde Değerlendirilmesi

Çoğu olguda tümör hacminde makroskobik bir küçülme olmadan çok daha erken dönemde biyokimyasal düzette tedavinin etkisi gözlenebilir. Bu nedenle bazı parametrelerin tedavinin daha başlangıç safhasında cevabı değerlendirmede faydalı olabileceği öne sürülmektedir. Yapılan birkaç çalışmada antitümör tedavinin başlangıcından kısa bir süre sonra dolaşımdaki DNA fragmanlarının düzeyinde artış olduğu gösterilmiştir. Başlangıçta yüksek bir piki takiben DNA konsantrasyonunda hafif bir azalma tedaviye yetersiz yanıtı gösterirken, ufak bir piki takiben hızlı ve tam bir düşme etkin bir tedaviye işarettir. Pankreas kanserli olgularda radyokemoterapinin başlangıç fazında nukleosomal DNA fragmanlarının konsantrasyonundaki değişiklik, PFS süresinin erken dönemde tesbit edilmesinde önemli bir indikatör olarak kabul edilmektedir. Yakın zamanda akciğerli kanser olgularında yapılan iki çalışmada CYFRA 21-1 ikinci tur kemoterapi başlamadan önce tedaviye cevabın değerlendirilmesinde potansiyel bir marker olduğu gösterilmiştir.

#### Hastalığın Nüksünün Tesbit Edilmesi

Tümörün cerrahi veya sistematik tedavi sonrasında belirli aralıklarla onkolojik biyomarkere bakılarak varsa has-

talık nüksü tebit edilebilir. Çoğu olguda biyokimyasal değişiklikler lokal ve sistemik tümör nüksüne bağlı makroskobik değişikliklerden önce gözlenir. Kanser olgularında apoptotik markerlerin düzeyindeki artış tümör nüksünden önce tesbit edilebilmektedir. Akciğer, meme ve over kanserlerinde sitokeratin markerlerden CYFRA 21-1, TPS ve TPA ile çeitli kanselerde DNA fragman düzeyleri bu marker grubu içerisinde yer almaktadır.

#### Sonuç

Dolaşımdaki apoptotik markerlerin kantitatif tayini tümör büyümesi ve agresifliği ile antitümör terapinin etkinliğinin değerlendirilmesinde yeni bir bakış açısına yol açmıştır. Çoğu apoptotik marker organ veya tümöre spesifik olmaması nedeniyle tarama testi ve tanı amaçlı kullanımları sınırlıdır. Benign olgular ekarte edildikten sonra tedavinin izlenmesinde ve hastalığın nüksünün saptanmasında apoptotik markerler faydalı olabilir. Dolaşımdaki apoptotik markerlerin konsantrasyonlarında erken dönemdeki değişiklikler tedaviye cevabın önceden saptanmasında yarar sağlayabilir. Apoptozisin tümör supresyonunun major mekanizmalarından birini oluşturduğunun anlaşılması tümör biyolojisinde dramatik bir yol katedilmesine neden olmuş ve kanserin önlenmesi ile tanı ve teşhisinde yeni yaklaşımlara yol açmıştır.

#### KAYNAKLAR

1. Krammer PH. CD95 (apo-1/Fas)-mediated apoptosis: live and let die. *Adv Immunol* 1999; 71:163-210.
2. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407:770-776.
3. Holdenrieder S, Stieber P. Apoptotic markers in cancer. *Clin Biochem* 2004; 37:605-617.
4. Stieber P. Sensible use of tumour markers. *J Lab Med* 2001; 25: 327-336.
5. Buccheri G, Ferrigno D. Lung tumour markers of cytokeratin origin: an overview. *Lung Cancer* 2001; 34: 65-69.

6. Barak V, Goike H, Panaretakis KW, Einarsson R. Clinical utility of cytokeratins as tumour markers. Clin Biochem 2004; 37:529-540.
7. Ziegler A, Zangemeister-Wittke U, Stahel RA. Circulating DNA: a new diagnostic gold mine? Cancer Treatment Rev 2002; 28: 255-271.
8. Anker P, Mulcahy H, Straun M. Circulating nucleic acids in plasma and serum as a noninvasive investigation for cancer: time for large-scale clinical studies? Int J Cancer 2003; 103: 149-152.
9. Holdenrieder S, Stieber P, Pawell J, Raith H, Nagel D, Feldmann K, Seidel D. Circulating nucleosomes predict the response to chemotherapy in patients with advanced non small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2004; 10:5981-5987.
10. Komuro Y, Watanabe T, Tsurita G, Muto T, Hirokazu N. Survivin expression in ovarian carcinoma: correlation with apoptotic markers and prognosis. Mod Pathol 2004; 17: 264.
11. Fernandez Flores. Apoptotic markers in the differential diagnosis of keratoacanthoma versus squamous cell carcinoma. Histopathol 2007; 50(2): 284-285.
12. Vasatura F, Sallusti E, Gradilone A, Malacrino C, Nardo T, Avagnano G, Agliano AM, et al. Comparison of extracellular matrix and apoptotic markers between benign lesions and carcinomas in human breast. Int J Oncol 2005; 27 (4):1005-1011.

**İSTANBUL TABİP ODASI**



**mesleğimize ve  
örgütümüze  
sahip çıkalım**

**bu kalp atmaya devam etsin!**

