

MEME KANSERİNDE YEREL KONTROLE ETKİ EDEN PREDİKTİF MOLEKÜLER VE GENETİK FAKTÖRLER

Ayfer Haydaroğlu

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, İzmir

PREDICTIVE MOLECULAR AND GENETIC FACTORS INFLUENCING LOCAL CONTROL IN BREAST CANCER

ABSTRACT

Breast cancer is a heterogeneous group of different histological subtypes, which are based on various molecular and genetic factors. All patients are given radiotherapy after breast-conserving surgery, which is actually considered unnecessary in two-thirds of these patients. Therefore, the fact that which patients should be administered radiotherapy has gained great importance. In this respect, known clinical and histopathological prognostic factors can not be sufficient to predict local control. Today, genetic and biotechnological advances caused significant progresses in molecular oncology, which is reflected in clinical oncology. In this article, molecular and genetic predictive factors that could be effective in the local control of breast cancer have been focused on, and a review of studies data conducted on the predictive value of the factors such as molecular classification, multigene tests, radiation resistance, DNA repair capacity, signaling pathways, cancer stem cells, and inhibition of CYP2D6 on local control was presented.

Key words: breast cancer, signal pathways, genetic, molecular structures, neoplastik stem cells, hypoxia, CYP2D6

ÖZET

Meme kanseri farklı histolojik alt tiplerden oluşan heterojen bir grup olup bu değişkenliklerin altında moleküler ve genetik faktörler yatmaktadır. Meme koruyucu cerrahi sonrası her hastaya radyoterapi verilirken aslında hastaların üçte ikisi boşuna radyoterapi almaktadır. Bu nedenle hangi hastaların tedavi alması gerektiği çok önem kazanmaktadır. Bilinen klinik ve histopatolojik prognostik faktörler bu konuda yerel kontrolü tahmin etmede yardımcı olmaya yetmemektedir. Günümüzde genetik ve biyoteknolojik gelişmeler moleküler onkolojide büyük aşamalara neden olmuş, bu durum klinik onkolojiye yansımıştır. Bu yazıda meme kanserinde yerel kontrole etkili olabilecek moleküler ve genetik prediktif faktörler üzerinde durulmuş, moleküler sınıflama, multigen testler, radyoterapi direnci, DNA tamir kapasitesi, sinyal yolları, kanser kök hücreleri, CYP2D6 inhibisyonu gibi etkenlerin yerel kontrol üzerindeki prediktif değeri için yapılan çalışma sonuçlarından bir derleme hazırlanmıştır.

Anahtar sözcükler: meme kanseri, sinyal yolları, genetik, moleküler yapılar, neoplastik kök hücreler, hipoksi, CYP2D6

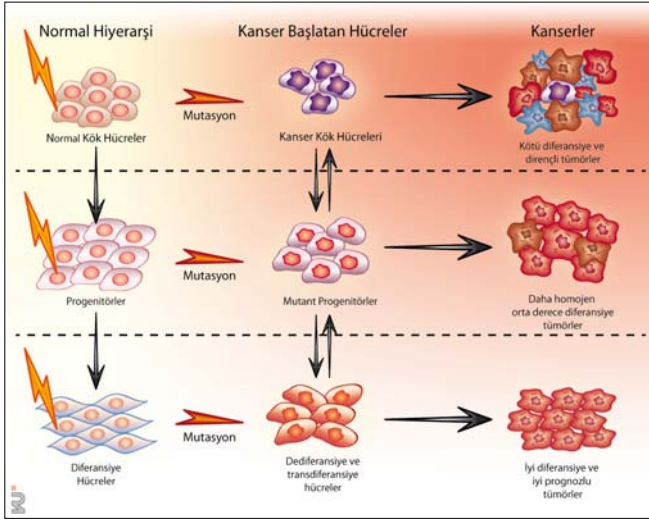
Meme kanseri farklı histolojik alt tiplerden oluşan heterojen bir gruptur. Bu değişkenlik farklı klinik tabloları oluşturur ve altta yatan farklı molekülleri ve genetik işaretleri taşır. Bu işaretlerin her biriyle farklı tedavi yanıtları karşımıza çıkar. Genetik şifrelerin çözülmeye başlandığı günümüzde yeni nesil gen dizi analizleri ve biyoteknolojik gelişmeler moleküler onkolojide yeni ufuklar açmış, onkolojik anlayışımızda büyük gelişmeler sağlamıştır. Meme Kanserinde radyoterapi bir lokal tedavi yöntemi olup meme koruyucu cerrahi (MKC) uygulanan hastaların kabaca 1/3'ü için gereklidir. Ama biz hangi üçte bire gerekli olduğunu bilemediğimiz için hepsine radyoterapi vermekteyiz. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG)'nin 10801 hasta ve 17 randomize çalışma içeren metaanalizinde 10 yıllık nüksleri ve 15 yıllık meme kanseri ölümlerinde radyoterapinin etkisini araştırmışlardır (1). Bu metaanalizde radyoterapinin yerel nüksleri %35'den %19,3'e (mutlak azaltma 15-7%, 95% CI 13,7-17,7, 2p<0.00001) düşürdüğü saptanmıştır. Kanıt değeri yüksek tüm randomize çalışmalar MKC sonrası radyoterapi uygulanmasını desteklemektedir. Oysa bu

günkü bilgilerimiz ışığında hastaları 2/3'ne boşuna radyoterapi veriyoruz. Bu ayrımı yapabilmek için yerel kontrolü etkileyen prognostik ve prediktif faktörler çok önemlidir.

MKC sonrası yerel nüks açısından risk faktörleri mastektomi sonrası yerel nüks risk faktörlerinden farklıdır. Genç yaş ve in situ duktal karsinom gibi birçok klinik ve histopatolojik faktör MKC sonrası yerel nüks açısından belirleyiciler olarak bilinirken mastektomiden sonra, lenf bezlerinin durumu ve tümör boyutu yerel nüks açısından anlamlıdır (2). Hastaya özel en uygun tedaviyi daha iyi yönlendirmek için, yerel nüks riski yüksek olan hastaların belirlenmesinde prediktif klinik ve histopatolojik bilgiler henüz yeterli değildir. O nedenle daha ayrıntılı moleküler ve genetik prediktif etkenlerin araştırılması gerekmektedir.

Moleküler sınıflamanın yerel kontrole etkisi

Meme epitelyal hücreler gelişim hiyerarşisinde meme kök hücrelerinden multipotent erken progenitorler, ondan myoepitelyal



Şekil 1. Normal Kök Hücre hiyerarşisine göre gelişen kanser başlatan hücreler farklı kanser türleri gelişmesine neden olabilir. (Haydaroglu A: Meme Kanserine Moleküler ve Genetik Yaklaşım, Ege Üniversitesi Yayınları, ISBN No: 978-975-483-928-9, İzmir. 2011)

ve luminal progenitörler gelişir. Myoepitelyal progenitörlerden diferansiyasyon myoepitelyal hücreler, luminal progenitörlerden diferansiyasyon alveolar ve luminal hücreler gelişir (Şekil 1). Bu gelişimler ihtiyaca göre beliren sinyallerle asimetrik bölünmeler sonunda olmaktadır. Bu gelişim hiyerarşisinin herhangi aşamasında oluşan moleküler ve genetik karsinogenez mekanizmaları farklı türde kanserleri ortaya çıkarmaktadır. Eğer mutasyon normal kök hücrelerden gelişmiş ortaya çıkan tümörler heterojen bir yapı ve daha fazla metastatik potansiyel gösterir. Progenitörlerin mutasyonundan kaynaklanan tümörlerde ise nispeten daha homojen bir yapı ve daha az metastaz olasılığı söz konusu olur. Luminal hücreler gibi olgun hücrelerin dediferansiyasyonundan başlatılmış kanserler iyi diferansiyedir ve daha iyi prognoz gösterir (3). Her bir alt tipin doğal seyri ve tedaviye yanıtı kendine özgüdür (Şekil 1).

Meme kanserinde gen ekspresyonu çalışmalarıyla belirlenen ve meme kanserinde prognostik önemi olduğu bilinen 4 moleküler alt tipi vardır. Bu moleküler alt tipler luminal A, luminal B, HER-2 2-pozitif, ve üçlü negatif (Triple negatif-TN) meme kanserleri. Üçlü

negatifler de bazal benzeri, klauidin^{düşük} ve normal benzeri gibi alt tiplere ayrılır (Tablo 1).

Luminal A: Luminal meme kanserleri ER-ilişkili genlerin ekspresyonu ile karakterizedir, luminal A' larda ER ve /veya PR pozitif HER-2 negatif olup proliferasyon indeksi düşüktür. St Gallen konsensusünde meme kanserinin luminal A kabul edilmesi için Ki 67'de kritik eşik değeri %14 olarak kabul edilmektedir (4).

Luminal B: ER ve/veya PR pozitif olan luminal özellikler gösteren Ki 67 değeri yüksek, HER-2 pozitif veya negatif olabilen tümörlerdir. Luminal A'da ER ile ilişkili genler daha fazla eksprese edilirken, Luminal B'de proliferatif genlerin ekspresyonu daha fazladır. Luminal B grubunda ER' ne bağlı genlerin ekspresyonu orta düzeydedir. Eğer HER-2 negatif ise Ki 67 %14'den daha yüksek olmasıyla luminal A'dan ayrılır (4). Luminal B tümörlerinin sonuçları yerel kontrol açısından benzer olmakla beraber, sağkalım açısından luminal A tümörlerinden daha kötüdür (5). Luminal A ve B arasındaki temel histolojik ayırım yüksek proliferasyon açısındandır.

HER-2 Pozitif: HER2-pozitif alt tipte HER-2 gen ekspresyonu yüksektir ancak ER ve PR negatiftir. Ekseri yüksek derecededir ve Ki67 yüksektir. Tanı anında lenf bezi tutuluğu sıklıkla vardır. Kemoterapi ve anti HER-2 tedavilere yanıt verirler (6). Tümör gelişim başlangıcı luminal özelliklerin daha belirlenmediği geç progenitör dönemlere tekabül eder.

Bazal Benzeri: ER ve PR reseptörü yanı sıra HER-2 da negatiftir ve prognozları kötüdür. sitokeratin (CK) 5/6 pozitifdir. Çok defa Epidermal growth factor receptor-EGFR pozitif bulunur. EGFR ve CK 5/6 belirleyicileri ile bazal benzeri tümörleri tanımlamada özgünlüğü yüksektir (5).

Klauidin^{düşük} alt tip; Meme kanserlerinin %5-7 sini oluştururlar ve meme kök hücrelerine benzeyen en primitif tümörlerdir (7). Tipik olarak üçlü negatiftir. Memede hücresel hiyerarşide hiçbir diferansiyasyon özelliği ortaya çıkmadan gelişmeye başlamışlardır ve kök hücre özellikleri gösterirler. Tedavilere yanıt azdır ve tedavi sonrası tümör kalıntıları çok olur.

Tablo 1. Meme kanserinde moleküler sınıflama özellikleri ve görülme yüzdeleri.

	Luminal A	Luminal B	HER-2 Pozitif	Bazal Benzeri	Klauidin ^{düşük}	Normal Benzeri
ER ve/veya PR	(+) Yüksek ER ekspresyonu	(+) Orta ER ekspresyonu	(-)	(-)	(-)	(-)
ER-2	(-)	(-/+) HER-2	(+)	(-)	(-)	(-)
Özellik	Düşük Ki 67 ≤ %14, GATA-3, CK8/18 yüksek, p53 Mut.%13	Yüksek Ki 67 >%14 p53 mut.%40	HER-2 ve HER-3 (+) p53 Mut. %71	CK5/6 (+) EGFR (+) p53 Mut. % 80, BRCA Mut. sık	Klauidin 3,4,7 ve E-Cadherin düşük CD44+/CD24-/düşük ve Kök Hücre benzeri,	Yağ dokusu belirteçleri, Lipoprotein, Lipaz, Integrin Alfa 7, p53 Mut. %33
Meme Kanseri %	%30	%20	%15-20	%10 – 25	%5-7	%7

Moleküler alt-tiplerin yerel bölgesel kontrole olan etkisi hakkında çok fazla araştırma yayınlanmamıştır. Nguyen ve ark. MKC uygulanmış 793 meme kanserli hastanın moleküler alt-tiplerini ER, PR ve HER-2 durumuna göre belirlemişler ve ortalama 70 aylık izlem süresinde 5 yıllık kümülatif lokal yineleme insidansını luminal A'da %1.8, luminal B'de %1.5, HER-2'da %8.4 ve bazal alt tipte %7.1 olarak saptamışlardır (8). Çok değişkenli analizde luminal A'ya göre değerlendirildiğinde, HER-2 ve bazal alt tipler artmış yerel yineleme riski ile ilişkiliyken, luminal B ve bazal alt tiplerin uzak metastaz ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Danimarka Meme Kanseri Ortak Grubu mastektomi sonrası radyoterapi çalışmalarında yerel-bölgesel nüks ile meme kanseri alt tipi arasında bir ilişki ortaya çıktığı, HER-2 ve bazal alt tiplerinin yerel-bölgesel nüks oranlarının luminal A veya B ile kıyaslandığında, anlamlı ölçüde yüksek bulunduğu gösterilmiştir (9). Ancak bu çalışmadaki HER-2 pozitif hastalardan hiç birinde trastuzumab tedavisi verilmemişti. Randomize klinik çalışmalar, HER-2 pozitif olgularda rutin kullanılan trastuzumab'ın yerel-bölgesel nüksü yaklaşık %50 oranında azalttığını göstermiştir (10).

Multigen ekspresyon bazı prognostik belirteçler

DNA mikro-dizi teknolojilerindeki gelişmelerle, tümörlerin gen ekspresyon karakteristikleri anlaşılabilen, klinisyenler hastalığın prognozu ve sistemik tedaviden elde edilecek olan faydayı öngörebilmektedirler. Gen profilini elde edebilmek için parafinle sabitleştirilmiş ya da taze tümör dokusuna gerek vardır. Bu yöntemlerin başlıcaları: PAM 50, 70 Gen Testi (Mammaprint), Genomic Grade Index (GGI; MapQuantDX assay), Theros Breast Cancer Index ve 21 Gen Analizi: Oncotype DX' dir.

70 gen testi (Mammaprint): T1-T2 evre, N 0-3 pozitif, invaziv meme kanserli hastaya ait frozen doku bankası örneklerinde geliştirilmiştir. İyi prognostik skoru olanlarda 5 yılda %95 uzak metastazsız yaşam elde etmiş, düşük prognostik skoru olanlar ise bu oran %60 olarak bulunmuştur (11).

Genomic Grade Index (GGI; MapQuantDX assay): ER pozitif olan olgularda hücre proliferasyonuna katılan 97 gende değerlendirme esasına dayanır (12).

Theros Breast Cancer Index: ER pozitif ve lenfatik tutuluş göstermeyen adjuvant tamoksifen ile tedavi edilen hastalarda doğrulanmıştır (13). Homeobox gen 13 ve Interlokin 17B oranı (H/I) yüksek olduğunda hastalısız sağkalım ve tüm sağkalımın kötüleştiği gösterilmiştir. H/I testi, kanser dokularının parafin kesitlerinde mRNA tanımlamaktadır.

Gen Analizi: Oncotype DX™: 21 gen meme kanseri incelemesi olup 10 yıllık uzak metastaz riskini ön görmekte ve lenfatik tutuluş olmayan hormon reseptör pozitif hastalarda adjuvan kemoterapinin yararını tahmin edebilmektedir. En yaygın kullanılan testtir. HER-2 ve ER yolakları ile ilgili ve ek olarak 5 referans genden oluşan

21 gen değerlendirilmektedir. RS (Reccurrence scor), hastaların 10 yıldaki ortalama uzak metastaz olasılığını yansıtmaktadır. RS düşük (RS<18), orta (RS 18-30) ve yüksek risk (RS≥31) grubu olarak yorumlanmaktadır. Bu skorlamaya göre 5 yıl tamoksifen alanlarda 10 yıllık uzak metastaz oranı düşük skorda <%12, orta grupta %12-21, yüksek risk grubunda ise %21-33 orandadır (14).

DNA tamir kapasitesi

Potansiyel letal hasarın tamir etme yeteneğine hücrelerin radyasyona cevabı değişiklik gösterir. Radyasyona bağlı oluşan hasarın tamiri ile radyasyonun hücrelerdeki biyolojik ölümü gerçekleşmez. Ayrıca DNA tamir kapasitesindeki artış bireylere göre farklılık gösterebildiği gibi moleküler ve genetik yollardan sinyal yolaklarının etkileşmesine bağlı değişiklik göstermekte radyasyona verilen yanıtı etkilemektedir. Radyasyon doku içine girdiği zaman organizmanın molekülleri ile temas ederek iyonizasyon ve eksitasyona neden olur. Biyolojik ortamda bol miktarda bulunan su molekülünü etkileyerek reaktif oksijen ürünlerine (Reactive Oxygen Species-ROS) yol açarak DNA ve diğer dokularda sekonder hasar oluşturur (15). İyonizan radyasyonun DNA zincirinde oluşturduğu onarılmaz lezyonlarla tümör hücrelerinin çoğalmasını durdurmakta ve giderek hücreleri ölüme sürüklemektedir. Hasar sonucunda DNA da tek (single strand breaks-SSB) ya da çift (double strand breaks-DSB) zincir kırıkları oluşur (16). Tek zincir kırıklarında onarım kolaydır düzenli olarak ve hızla onarırlar ama çift zincirde meydana gelen hasarı onarımı zor olmaktadır. DNA'da onarılmaz hasar olduğu durumlarda hücre döngüsündeki kontrol noktalarının onarım için yol gösterdiği bilinmektedir (16). Öte yandan DSB, iyonizan radyasyonun ölümcül etkisi olup oldukça yavaş tamir edilir ve yanlış DNA onarım olasılığı olduğu için kromozom anormallikleri meydana gelebilir. DNA onarımı kalıtsal olarak veya dış etkenlerle değişen oranda olabilir ve bu durum radyo duyarlılığı etkiler. DNA onarımı, reoksijenasyon, tekrar farklılaşma ve çoğalma fraksiyone radyoterapi etkisine katkıda bulunabilir (15).

Sinyal yolaklarının aktivasyonu

Büyüme faktörleri [epidermal büyüme faktörü reseptörü (Epidermal growth factor receptor-EGFR), insulin benzeri büyüme faktörü (Insulin like growth factor receptor-IGFR), vasküler damar içi büyüme faktörü (Vascular endothelial growth factor-VEGF)] radyo dirençte rol almaktadır. Bir onkogen olan EGFR ile sinyal yollarının aktivasyonu hücrelerde çoğalmaya yol açarak, DNA onarım genlerinin amplifikasyonunun da hasar onarımı yaparak radyo dirence neden olurlar (17). Radyoterapinin EGFR inhibitörleriyle kombinasyonu yerel tümör kontrolünü geliştirmektedir. EGFR inhibisyonunun yararının mekanizmaları arasında; modifiye olmuş sinyal iletimi yoluyla hücre radyo duyarlılık, DNA hasarının onarımının inhibisyonu, repopulasyonda azalma, fraksiyone radyoterapi sırasında artan reoksijenasyon vardır (18). VEGF ise hipoksi ile uyarılarak anjiyotensin ekspresyonunu sağlamakta ve bu neovaskülarizasyona yol açmaktadır. Yeniden damarlanan tümör beslenerek büyümesini devam ettirebilmekte ve tedavi direncinde önemli rol oynamaktadır (19).

Genetikle ilişkili faktörler

BRCA1 ve BRCA2 gen mutasyonları, p53 mutasyonu, telomer uzunluğu genetikle ilgili faktörler içinde sayılabilir (20-28).

BRCA1/2 Gen Mutasyonu: BRCA1 ile ilişkili meme kanseri genellikle yüksek evre, infiltratif, duktal karsinomlardır; östrojen reseptörleri, progesteron reseptörleri, HER-2, veya siklin D1 yoktur, fakat p53 ekspresyon ederler (21). BRCA1 ile ilişkili meme kanserlerinin bazal epitelyal fenotip ile karakterize olduğu, sıklıkla CK 5/6 aşırı ekspresyonu görüldüğü ortaya konmuştur (22). Sıklıkla BRCA1 gen mutasyonu ile beraber görülen bazal benzeri tip tümörü olan hastaların prognozu luminal A tümörü olan hastalara kıyasla daha kötüdür. Üçlü negatif tümörler geniş bir grup olup yaklaşık %10'u BRCA1 mutasyonu ile ilişkilidir. BRCA1 mutasyonu ile ilişkili tüm meme kanserlerinin %90'ı üçlü negatif tümörlerdir (23). BRCA 1 ile ilişkili meme kanserlerinde genellikle yüksek olan CK 5/6, p53 ve Ki 67 ekspresyonu tedavi dirençleri ile ilişkilidir. BRCA 1 ile ilişkili meme kanserleri hızlı büyür ve aksiller lenf nodu negatif olsa bile prognoz çok kötüdür, hematogen metastaz lenfatik metastazdan önce çıkar (24). Goodwin ise epidemiyolojik çalışmasında sporadik olgularla arada bir fark bulamamıştır (25). Bazı çalışmalar BRCA2 mutasyonu taşıyıcılarında sağkalımın non-herediter meme kanserlerine göre bir farklılık göstermediğini rapor ederken (26) aksini bulan çalışmalar da vardır (25).

P53: Tümör baskılayıcı gen olan p53'ün mutasyonu, apoptozu engelleyerek radyo dirence neden olmaktadır (20). P53-bağımlı apoptozisin tetiklenmesindeki yetersizlik radyasyona karşı olan dirençte p53 mutasyonlarının mekanizmasını açıklayabilir (23). Ondan fazla aksiller lenf nodu içeren hastalarda p53 gen durumunun prognostik değerini incelendiği bir çalışmada p53 mutasyonu olan grupta nükslerin daha fazla olduğu bulunmuştur (20).

Telomerler: Telomer uzunluğunun tümör hücrelerini ölümden korduğu ve tedavi dirençleri ile ilişkisi olduğu öne sürülmektedir. Zhong ve ark. meme kanserli hücre serilerinde telomer boyu ile radyo duyarlık arasında negatif korelasyon bulmuştur (27) oysa, Iwasaki ve ark. meme kanserli hastalarda in vitro örneklerde lenfosit telomer uzunluğu ile radyoterapiyi takiben gelişen akut cilt reaksiyonları arasında hiçbir korelasyon bulamamıştır (28).

Hipoksi

Hipoksik hücreler radyasyona iyi oksijenlenen hücrelere göre 2,5–3 kat daha fazla dirençlidirler. Radyodirençli tümörlerin hipoksik hücre oranları daha yüksektir. Hipoksik ortamda bulunan hücreler fraksiyonlar arasında oksijene ulaşamazlar. ROS üretiminde azalmanın eşlik ettiği oksijen yetersizliği aslında "klasik" bir patofizyolojik radyo direnç faktörüdür. Bölgesel akut ve kronik hipoksi son 20 yıldır çok iyi bilinen fenomenlerdir. Ancak hipoksinin kanser hücresi üzerinde oluşturduğu değişiklikler son araştırmalarla yeni boyutlar kazanmış, bazı kanser hücrelerinin hipoksik koşullar altında adaptasyon geçirerek değiştiği ortaya konmuştur. Hipoksi, kanser hücrelerinde mutasyon oranlarını ve genetik değişiklikleri arttırmakta ve çok daha agresif hücre popülasyonlarının oluşmasına neden olmaktadır (17).

Hipoksi ile indüklediğinde, HIF2 α (*Hypoxia induced factor 2 α*) daha dirençli kök hücre benzeri hücrelerin gelişimini desteklemektedir. HIF2 α 'nın tirozin kiraz reseptörünün ekspresyonunu ve sinyalizasyonunu düzenlediği saptanmıştır (29, 30). HIF2 α 'nın inhibisyonunda veya eksikliğinde, p53 aktivasyonunu, apoptozisi, G2/M fazında hücre döngüsü blokajını indükler ve yüksek düzeyde reaktif oksijen türleri yanı sıra DNA hasarı birikimine bağlı olarak tümör hücrelerinin radyo duyarlığına yol açar.

Hipoksinin neden olduğu en önemli değişim metastaz mekanizmasını ve tedavi direncini açıklayan Epitelyal Mezanşimal Dönüşümdür [EMD (*Epithelial-to-Mesenchymal Transition*)] (31). Hipoksi, kronik inflamasyon ve çevredeki mezankimal kök hücrelerle birlikte epitelyal kanser hücrelerinde EMD'a yol açmakta ortaya kanser kök hücresi özellikleri taşıyan, tedavilere dirençli ve daha dayanıklı hücreler ortaya çıkmaktadır. Bu dönüşüm; epitelyal hücre-hücre bağlantılarının bozulmasına, hücrelerinin apikal ve bazal polaritesinin kaybına, hücre dışı matriksin yeniden düzenlenmesine, hücre hareketine ve doku içersine olan göçünün artışına neden olarak metastatik süreci kolaylaştırmış olur (31).

Kanser Kök Hücresi (KKH)

KKH'leri tümörün başlangıcından sorumlu olan ve tümör dokusundaki çok sayıda farklılaşmış hücre topluluğunu oluşturan hücrelerdir. Meme kanseri, kanser kök hücrelerinin tanımlandığı ve izole edildiği ilk solid malignitedir (32).

Radyasyon etkisinde kalmış KKH'lerinde, DNA hasarını takiben tümör hücre yaşlanmasına karşı direnç söz konusu olduğu için diğer tümör hücrelerine göre daha fazla radyo direnç göstermektedir. KKH, kendini korumak üzere Normal Kök Hücre (NKH)'lerin özelliklerine sahiptir. KKH de NKH'ler gibi metabolik pasiflik (sessizlik) içinde ve aktif DNA onarım kapasitesindedir (33). Apoptozise ve yaşlanmaya karşı direnç göstermektedir. Sitotoksik ilaçlar ve radyoterapi temel olarak hızla bölünen hücreleri hedef alırlar, bu nedenle uzun ömürlü ve göreceli olarak daha sakin KKH popülasyonu tedaviye daha dirençlidir (33).

KKH'lerin radyoterapi direnci bazı laboratuvar testlerle kanıtlanmıştır. Monolayer kültürde (MCF-7) ve Mammosferlerde (MCF-7S) hücre radyasyon yanıtı incelenmiş, sağkalım fraksiyonları karşılaştırılmış, CD44+ CD24-/düşük fenotipini taşıyan KKH benzeri popülasyonun göreceli olarak radyo dirençli olduğu gösterilmiştir. Radioimmün assay yöntemle DNA zincir kırıklarını gösteren γ H2AX seviyeleri ve ayrıca serbest radikal oluşumları mammosfer kültüründe daha düşük bulunmuştur. Bu durum KKH'de DNA zincir kırıklarının daha az olduğunu göstermektedir (34).

Radyasyon sonucu gelişen hücre ölümlerinde başlıca hedef DNA olduğu için, KKH'de DNA hasar onarımı yoğun bir biçimde araştırılmıştır. Radyasyondan 24 saat sonra ölçülen reziduel γ H2AX odaklarının sayısı genel olarak klonojenik sağkalım ile benzeşmektedir (35). Her DSB başına γ H2AX'nin immünohistokimyasal olarak belirlenebilen 1 odak oluşturduğuna inanılır (36). KKH'deki γ H2AX

odaklarının indüksiyonu ve resolusyonu çeşitli çalışmalarda incelenmiş ve meme KKH'inde daha az sayıda uyarılmış γ H2AX odağı saptandığı ve KKH olmayan hücrelere göre γ H2AX odaklarının daha hızlı resolüsyonu rapor edilmiştir (34, 37).

Kök hücre benzeri normal ve malign epitelial hücrelerde apoptotik direnç olmaktadır. Harper ve ark. insan normal hücre hattı ve insan epitelial kanserlerinden elde edilen kök hücre yoğunluklu hücre hatlarını apoptozisi indükleyici UV, Tümör Nekrotizan Faktör, Sisplatin, Etopozid, ve Neokarsinostatin gibi çeşitli uyarılara maruz bıraktılar. Kök hücre belirteçleri olarak CD44 ve epitel spesifik antijen (ESA) ekspresyonu, tümör sfer formasyonu, ve hızlı aderans testleri kullandılar. Apoptozis, hücre döngüsü ve çeşitli hücre döngüsü kontrol noktaları proteinleri değerlendirildi. Çalışmanın sonucunda kök hücre özellikleri taşıyan normal ve malign insan epitel hücrelerinin, uzamış G2 hücre siklusu fazıyla ilişkili apoptozise daha fazla direnç gösterdiğini, G2 kontrol noktaları proteinlerinin hedef alınması ile bu hücrelerin G2 bloğundan kurtarıldığını ve apoptozise daha yatkın hale getirildiğini buldular. G2 blok çözücü gelişmiş terapötik yaklaşımların kanser tedavileri için bir fırsat yaratabileceğini öne sürdüler (38).

Tamoksifen kullanan hastalarda CYP2D6 inhibisyonunun nüklere etkisi

Tamoksifenin aktif hale gelebilmesi için bazı polimorfik enzimlere gerek vardır. Genetik varyasyonlar sonucu bu enzimlerde azalma olursa tamoksifen direnci oluşur. CYP2D6 (cytochrome P450 2D6) bu katolizör enzimlerinden biridir ve polimorfik varyantları bulunabilmektedir (39). Meme kanserli hastaların $\frac{1}{4}$ 'ü depresyona girer ve bunların yarısı antidepresan kullanır. Meme kanserli

hastalarda antidepresan olarak kullanılan citalopram CYP2D6 ile metabolize olduğu için tamoksifenin etkinliğini azalttığı ileri sürülmektedir (40). Bu konuda farklı görüşleri olan araştırmacılar da vardır (41,42). Yapılan bir epidemiyolojik ve farmakolojik meta-analiz çalışmasında genetik mutasyon sonucu gelişen CYP2D6 inhibisyonunun yinelenmelerle ilişkisi gösterilirken içinde kuvvetli CYP2D6 inhibisyonu yapabilecek etken madde bulunan antidepresanların rekürrenslerle ilişkisinin olduğu fakat genetik mutasyon kadar belirgin olmadığı ortaya konmuştur (43).

Sonuç

Radyoterapiye direnç mekanizmaları yerel kontrolü etkilemektedir. Bu konuda daha fazla moleküler ve genetik araştırmalara gereksinim vardır. KKH'leri normal kök hücreler gibi kendini apoptoza ve yaşlanmaya karşı korumakta ve bu nedenle radyasyon tedavisine direnç göstermektedir. KKH'leri kanser tedavilerinde direnç yanısıra yeni hedefler sunması nedeniyle yeni tedavi fırsatları yaratabilmektedir. Moleküler sınıflama yerel kontrolde prediktif olarak bize kısmen yardımcı olmaktadır ama hala eksik yönler vardır. Radyoterapi direncinde rol oynayan faktörler ve hipoksi konusunda daha fazla araştırmalara gerek vardır. Normal kök hücrelere zarar vermeden KKH'lerini yok etmeye yarayacak farklı moleküler ve genetik hedeflerin belirlenmesi, kanseri başlatan genetik ve epigenetik olayların saptanması gerekmektedir. KKH'lerin direnç mekanizmasında rol oynayan sinyal yollarının inhibisyonu yeni tedavi olasılıkları yaratmaktadır bu nedenle sinyal yollarını üzerine daha fazla çalışmalar yapılmalıdır. Yakın gelecekte yerel kontrolü öngörmeye yarayacak gen dizi analizleri ve moleküler belirteçlerin hayata geçebilmesi için radyasyonun genetik ve moleküler temeline inen araştırmalar yapılması gerekir.

Kaynaklar

1. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet* 2011; 378: 771-784. (PMID:22019144)
2. van der Leij F, Elkhuisen PH, Bartelink H, van de Vijver MJ. Predictive Factors for Local Recurrence in Breast Cancer. *Semin Radiat Oncol* 2012; 22: 100-107. (PMID: 22385917)
3. Haydaroglu A. Meme Kanseri Kök Hücreleri. In: Haydaroglu A. Ed. Meme kanserine moleküler ve genetik yaklaşım. I. Baskı. Ege Üniversitesi Yayınları, ISBN: 978-975-483-928-9, Bornova, İzmir. 2011.
4. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ; Panel members. Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: Highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Annals of Oncology* 2011; 22: 1736-1747. (PMID:21709140)
5. Cheang MC, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, Perou CM, Nielsen TO. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008;14(5): 1368-1376. (PMID:18316557)
6. Peppercorn J, Perou CM, Carey LA. Molecular subtypes in breast cancer evaluation and management: divide and conquer. *Cancer Invest* 2008;26:1-10. (PMID:18181038)
7. Perou MC. Molecular Stratification of Triple-Negative Breast Cancers. *The Oncologist* 2010; 15: 39-48. (PMID:21278442)
8. Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, Niemierko A, Abi Raad RF, Boon WL, Bellon JR, Wong JS, Smith BL, Harris JR. Breast cancer subtype approximated by estrogen receptor, progesterone receptor, and Her-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol* 2008 26: 2373-2378. (PMID:18413639)
9. Kyndi M, Sorensen FB, Knudsen H, Overgaard M, Nielsen HM, Overgaard J; Danish Breast Cancer Cooperative Group. Estrogen receptor, progesterone receptor, Her-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer: The Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol* 2008. 26: 1419-1426. (PMID:18285604)
10. Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, Goldhirsch A, Untch M, Smith I, Gianni L, Baselga J, Bell R, Jackisch C, Cameron D, Dowsett M, Barrios CH, Steger G, Huang CS, Andersson M, Inbar M, Lichinitser M, Láng I, Nitz U, Iwata H, Thomssen C, Lohrisch C, Suter TM, Rüschoff J, Suto T, Gøtzsche V, Ward C, Straehle C, McFadden E, Dolci MS, Gelber RD; Herceptin Adjuvant (HERA) Trial Study Team. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-1672. (PMID:16236737)
11. Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, Dai H, Hart AA, Voskuil DW, Schreiber GJ, Peterse JL, Roberts C, Marton MJ, Parrish M, Atsma D, Witteveen A, Glas A, Delahaye L, van der Velde T, Bartelink H, Rodenhuis S, Rutgers ET, Friend SH, Bernards R. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N Engl J Med* ;2002. 347: 1999-2009. (PMID:12490681)

12. Toussaint J, Sieuwerts AM, Haibe-Kains B, Desmedt C, Rouas G, Harris AL, Larsimont D, Piccart M, Foekens JA, Durbecq V, Sotiriou C. Improvement of the clinical applicability of the Genomic Grade Index through a qRT-PCR test performed on frozen and formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *BMC Genomics* 2009;10: 424 (PMID:19744330)
13. Goetz MP, Suman VJ, Ingle JN, Nibbe AM, Visscher DW, Reynolds CA, Lingle WL, Erlander M, Ma XJ, Sgroi DC, Perez EA, Couch FJ. A two-gene expression ratio of homeobox 13 and interleukin-17B receptor for prediction of recurrence and survival in women receiving adjuvant tamoxifen. *Clin Cancer Res* 2006;12: 2080-2087. (PMID:16609019)
14. Paik S, Tang G, Shak S, Kim C, Baker J, Kim W, Cronin M, Baehner FL, Watson D, Bryant J, Costantino JP, Geyer CE Jr, Wickerham DL, Wolmark N. Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24: 3726-3734. (PMID:16720680)
15. Hall EJ. Radiation, the two-edged sword: cancer risks at high and low doses. *Cancer J* 2000; 6:343-350. (PMID:11131480)
16. Khanna KK, Jackson SP. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. *Nat Genet* 2001;27: 247-254. (PMID:11242102)
17. Brunner TB, Kunz-Schughart LA, Grosse-Gehling P, Baumann M. Cancer Stem Cells as a Predictive Factor in Radiotherapy. *Semin Radiat Oncol* 2012;22: 151-174. (PMID:22385922)
18. Baumann M, Krause M, Dikomey E, Dittmann K, Dörr W, Kasten-Pisula U, Rodemann HP. EGFR-targeted anti-cancer drugs in radiotherapy: Preclinical evaluation of mechanisms. *Radiother Oncol* 2007; 83: 238-248. (PMID:17502118)
19. Zhao Y, Bao Q, Renner A, Camaj P, Eichhorn M, Ischenko I, Angele M, Kleespies A, Jauch KW, Bruns C. Cancer stem cells and angiogenesis. *Int J Dev Biol* 2011;55:477-482. (PMID:21732274)
20. Marchetti P, Cannita K, Ricevuto E, De Galitiis F, Di Rocco ZC, Tessitore A, Bisegna R, Porzio G, De Rubeis GP, Ventura T, Martinotti S, Ficorella C. Prognostic value of p53 molecular status in high-risk primary breast cancer. *Ann Oncol* 2003;14:704-708. (PMID:12702523)
21. Chappuis PO, Nethercot V, Foulkes WD. Clinico-pathological characteristics of BRCA1- and BRCA2-related breast cancer. *Semin Surg Oncol* 2000;18: 287-295. (PMID:10805950)
22. Foulkes WD, Stefansson LM, Chappuis PO, Bogin LR, Goffin JR, Wong N, Trudel M, Akslen LA. Germline BRCA1 mutations and a basal epithelial phenotype in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95: 1482-1485. (PMID:14519755)
23. Chacón RD, Costanzo MV. Triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 2010;12:3. PMID:21050424
24. Goffin JR, Chappuis PO, Be'gin LR, Wong N, Brunet JS, Hamel N, Paradis AJ, Boyd J, Foulkes WD. Impact of germline BRCA1 mutations and overexpression of p53 on prognosis and response to treatment following breast carcinoma: 10-year follow up data. *Cancer* 2003;97: 527-536. (PMID:12548593)
25. Goodwin PJ, Phillips KA, West DW, Ennis M, Hopper JL, John EM, O'Malley FP, Milne RL, Andrulis IL, Friedlander ML, Southey MC, Apicella C, Giles GG, Longacre TA. Breast cancer prognosis in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: an International Prospective Breast Cancer Family Registry population-based cohort study. *J Clin Oncol* 2012;30:19-26. (PMID:22147742)
26. Foulkes WD, Rosenblatt J, Chappuis PO. The contribution of inherited factors to the clinicopathological features and behavior of breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2001;6: 453-465. (PMID:12013534)
27. Zhong YH, Liao ZK, Zhou FX, Xie CH, Xiao CY, Pan DF, Luo ZG, Liu SQ, Zhou YF. Telomere length inversely correlates with radiosensitivity in human carcinoma cells with the same tissue background. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;367:84-89. (PMID:18155157)
28. Iwasaki T, Robertson N, Tsigani T, Fannon P, Scott D, Levine E, Badie C, Bouffler S. Lymphocyte telomere length correlates with in vitro radiosensitivity in breast cancer cases but is not predictive of acute normal tissue reactions to radiotherapy. *Int J Radiat Biol* 2008;84:277-284. (PMID:18386193)
29. Heddeleston JM, Li Z, Lathia JD, Bao S, Hjelmeland AB, Rich JN. Hypoxia inducible factors in cancer stem cells. *Br J Cancer* 2010;102:789-795 (PMID:20104230)
30. Vaupel P, Mayer A, Höckel M: Tumor hypoxia and malignant progression. *Methods Enzymol* 2004;381:335-354. (PMID:15063685)
31. Jing Y, Han Z, Zhang S, Liu Y, Wei L. Epithelial-Mesenchymal Transition in tumor microenvironment *Cell & Bioscience* 2011;1: 29. (PMID:21880137)
32. Charafe-Jauffret E, Monvillea F, Ginestier C, Dontu G, Birnbaum D, Wichad MS: Cancer Stem Cells in Breast. *Current Opinion and Future Challenges. Pathobiology* 2008;75:75-84. (PMID:18544962)
33. Zafarana G, Bristow RG. Tumor senescence and radioresistant tumor-initiating cells (TICs): let sleeping dogs lie! *Breast Cancer Res* 2010;12: 111. (PMID:20619004)
34. Phillips TM, McBride WH, Pajonk F. The response of CD24-/low/CD44+ breast cancer-initiating cells to radiation. *J Natl Cancer Inst* 2006;98: 1777-1785. (PMID:17179479)
35. Prevo R, Deutsch E, Sampson O, Diplexico J, Cengel K, Harper J, O'Neill P, McKenna WG, Patel S, Bernhard EJ. Class I PI3 kinase inhibition by the pyridinylfuranopyrimidine inhibitor PI-103 enhances tumor radiosensitivity. *Cancer Res* 2008;68: 5915-5923. (PMID:18632646)
36. Olive PL. Detection of DNA damage in individual cells by analysis of histone H2AX phosphorylation. *Methods Cell Biol* 2004;75: 355-373. (PMID:15603433)
37. Diehn M, Clarke MF. Cancer stem cells and radiotherapy: New insights into tumor radioresistance. *J Natl Cancer Inst* 2006;98: 1755-1757. (PMID:17179471)
38. Harper LJ, Costea DE, Gammon L, Fazil B, Biddle A, Mackenzie IC. Normal and malignant epithelial cells with stem-like properties have an extended G2 cell cycle phase that is associated with apoptotic resistance. *BMC Cancer* 2010;10:166. (PMID:20426848)
39. Kiyotani K, Mushiroda T, Imamura CK, Hosono N, Tsunoda T, Kubo M, Tanigawara Y, Flockhart DA, Desta Z, Skaar TC, Aki F, Hirata K, Takatsuka Y, Okazaki M, Ohsumi S, Yamakawa T, Sasa M, Nakamura Y, Zembutsu H. Significant Effect of Polymorphisms in CYP2D6 and ABCC2 on Clinical Outcomes of Adjuvant Tamoxifen Therapy for Breast Cancer Patients by American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2010;28:1287-1293. (PMID:20124171)
40. Newman WG, Hadfield KD, Latif A, et al. Impaired tamoxifen metabolism reduces survival in familial breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2008;14:5913-5918. (PMID: 18794105)
41. Dezentje VO, van Blijderveen NJ, Gelderblom H, et al. Effect of concomitant CYP2D6 inhibitor use and tamoxifen adherence on breast cancer recurrence in early-stage breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28:2423-2429. (PMID: 20385997)
42. Azoulay L, Dell'aniello S, Huiart L, et al. Concurrent use of tamoxifen with CYP2D6 inhibitors and the risk of breast cancer recurrence. *Breast Cancer Res Treat* 2011;126:695-703. (PMID: 20848186)
43. Cronin-Fenton DP and Lash TL: Clinical epidemiology and pharmacology of CYP2D6 inhibition related to breast cancer outcomes. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2011;4: 363-377. (PMID: 21709817)

İletişim

Ayfer Haydaroglu
Tel : +90(232) 390 32 70
E-Posta : haydarogluayfer@gmail.com