

# İskemi-Reperfüzyon ve Kanser Metastazı: Biyokimyasal Bakış

ISCHEMIA REPERFUSION AND CANCER METASTASIS: BIOCHEMICAL ASPECTS

Ferhat Can ÖZKAYA<sup>1</sup>, Hilal KOÇDOR<sup>2</sup>

Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyokimya Bölümü  
Dokuz Eylül Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Temel Onkoloji Anabilim Dalı

## ÖZET

İskemi-reperfüzyon insan organizmasında pek çok patofizyolojik sürecin başlangıcında önemli rol alan karmaşık bir reaksiyondur. İskemi-reperfüzyon ile tumor metastazi arasında da ilişkiler mevcuttur. Ancak bu konu yeterince aydınlatılmamıştır. Bu yazıda iskem-reperfüzyon olayı ile kanser metastazi arasındaki ilişkilerin biyokimyasal pencereden açıklanması hedeflenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** İskemi-reperfüzyon, metastaz

## SUMMARY

Ischemia and reperfusion is a complex reaction that plays important roles on initial periods of various pathophysiologic processes in human organism. There are also some links between ischemia-reperfusion and tumor metastasis. However, this topic is still unclear. In this article, from the points of biochemical view, we aimed to explain relationships between ischemia-reperfusion and tumor metastasis.

**Key words:** Ischemia-reperfusion, metastasis

## Hilal KOÇDOR

Dokuz Eylül Üniversitesi  
Onkoloji Enstitüsü  
35340 İnciraltı, İZMİR  
Tel: (232) 4125800, 4125810  
Fax: (232) 2789495  
e-posta: hilal.kocdor@deu.edu.tr

İskemi ve reperfüzyon (I/R), kanser ya da enfeksiyon gibi hemen tüm tıbbi disiplinleri ilgilendiren; klinik ya da moleküler olsun bir çok basamağı yeterince aydınlatılmamış geniş bir patofizyolojik süreçtir. Akut ya da kronik dolaşım bozuklukları, organ perfüzyonlarının etkilendiği hastalık durumları, flep cerrahisi sonrası iskemik sorunlar, solid organ transplantasyonunun hemen her basamağı bu süreçten en çok etkilenen patolojilerdir. Kanseri hücrelerinin yerel ya da uzak yayılımında da, benzer patofizyolojik süreçler gözlenmektedir; başka bir deyişle, İR metastatik süreçlerde de etmen olabilmektedir. Bu yazıda, İR'nin kanser metastazında oynadığı rollerin açıklanması hedeflenmiştir.

Bilindiği üzere iskem, kan ile birlikte dokuya ulaşması gereken substrat ve oksijenin bir şekilde engellenerek ulaşmaması veya kısıtlanması olarak tanımlanmaktadır. Kritik iskem zamanı, iskemik hasarın doku tarafından

tolere edilebildiği ve dolaşım sağlandığında canlılığını sürdürdürebildiği en uzun zaman dilimi olarak ifade edilir. Ortalama kritik iskem zamanı, iskemik periyod sırasında cerrahi fleplerin %50'sinin ölümüne neden olan zaman dilimi olarak ele alınabilir. Bu zaman dilimi dokudan dokuya farklılık göstermektedir (1).

Dokulara, ihtiyacı olan oksijenin yeterince sağlanamaması durumu, hücrelerde anaerobik metabolik yolların kullanımı zorunlu hale getirir. Dokularda meydana gelen iskemiyile azalan oksijen düzeyi laktat birikimine, doku pH'sında düşüşe ve sonunda membran transport sisteminde hasara neden olur. Ayrıca transport sisteminin bozulması ile hücre içi kalsiyum yoğunluğunda artış meydana gelir. Artan kalsiyum ikinci mesajcılara, çeşitli enzimlere etki eder. Bu durum öncü inflamatuvarların birikmesine, membranların işlev ve bütünlüğünün olumsuz etkilenmesine ve ayrıca hücre iskeletinin organizasyonunun bozulmasına

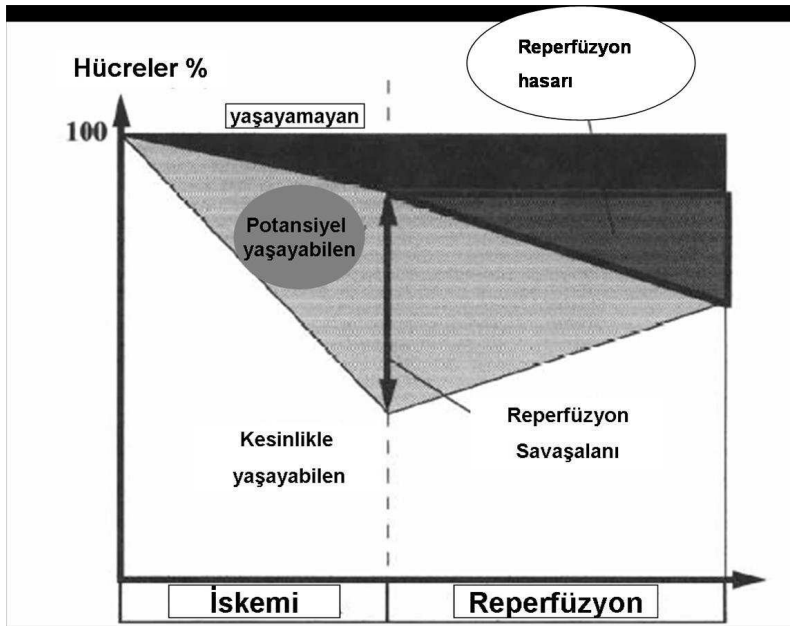
neden olur. Tüm bu değişiklikler sırasında dokuların enerji depoları tükenirken, biyolojik olarak aktif ajanların (prostasiklin, nitrik oksit gibi) üretiminin azalır, doku için toksik yeni bileşiklerin oluşum hızında artış meydana gelir. Öte yandan, süreç boyunca adezyon molekülleri, sitokinlere ilişkin bazı genlerin sentez hızı azalırken, bazı genlerin (cNOS, trombomodulin) iskemik hücrelerde sentez hızı artar (2,3).

**Reperfüzyon** iskemide duran ya da yavaşlayan kan akışının yeniden normale dönmeye geçmesidir. İskemik organda kan akışı her ne kadar normale dönsün de iskemik organ, fonksiyonlarını kısmen geri kazanır. Kan akışı reperfüzyon ile düzenlenirken iskemide boyunca meydana gelen biyokimyasal ve moleküler değişimler serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olurlar (4,5). Süper oksit ( $O_2^-$ ) anyonu, hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil ( $OH^\cdot$ ) en iyi bilinen serbest oksijen radikalleridir. Bu ürünlerin oluşumunda ksantin oksidaz sistemi ile difosfonükleotid (NADPH) sistemi etkin rol oynamaktadır (6). Sonuçta dokularda iskemik süreçten çok daha fazla hasar meydana gelir.

## İSKEMİ - REPERFÜZYON MEKANİZMASI VE HASARI

İskemi-reperfüzyondan (I/R) en çok *mikrovasküler* damar endotel hücreleri etkilenir. Bu süreç boyunca oluşan serbest oksijen radikalleri endotel hücrelerinin şişmesine ve kapiller geçirgenliğin artmasına neden olur. Reperfüzyon oluşurken normale dönmeye çalışan kan akımı ile birlikte, halihazırda bol miktarda salınmış bulunan inflamatuvar substratların iskemik alana ulaşımı da sağlanır. Aktifleşen nötrofiller ve inflamatuvar hücrelerle birlikte bölgesel hasarın çok daha genişlemesine yol açar. Reperfüzyon hasarının boyutu dokudan dokuya değişmektedir. Deri ve kemik dokuları, iskelet kası ve intestinal mukozaya göre I/R'ye daha dayanıklıdır. İskemi-reperfüzyon periyodunun uzunluğu ve derinliği, doku mikrosirkülasyonunun geri dönüşümünü, hücrenin temel yapı ve fonksiyonlarını değişik derecelerde etkileyerek hasarın büyümesine neden olmaktadır (1,7) (Şekil 1).

İskemi-reperfüzyon hasarı karaciğer rezeksiyonu, ciddi abdominal kanama, çeşitli şok türleri ve karaciğer transplantasyonu sırasında gelişen bazı klinik tabloların temelini oluşturmaktadır. Bu klinik tablolar serbest oksijen radikallerden kaynaklanmaktadır (8,9).



**Şekil 1. İskemi-Reperfüzyon Hasarı.** İskemi sürecindeki hücrelerin az da olsa yaşayabilme potansiyeli vardır. Geri dönüşümsüz hasar, nekrozla sonuçlanır. Potansiyel olarak yaşayabilen hücreler, reperfüzyon periyodunun "savaş alanından" sonra ya normal fonksiyonlarını kazanırlar ya da bu alandan nekroza uğrayarak çıkarlar. Başarılı bir reperfüzyonla, iskemiyeye uğramış tüm hücrelerin kurtarılma olasılığı düşüktür. Üstelik, IR sürecinden sonra yaşayan bazı hücrelerde çok uzun dönemde nekroz geliştiği gösteren kanıtlar mevcuttur.

reperfüzyon, organizmada istenmeyen birçok olayın tetikleyicisi olduğu gibi kanser hücrelerinin metastazında da rol oynamaktadır. Mekanizmanın açıklanması açısından araştırmalarda model olarak sıklıkla karaciğer kullanılmaktadır. Çünkü karaciğer rezeksiyonu ve transplantasyonu boyunca sürekli ve tekrarlayan IR atakları söz konusu olmakta; ayrıca kanser metastazlarından en sık gözlendiği organlardan biri konumundadır. Deneysel IR bu organda metastatik süreci hızlandırmaktadır. Örneğin, Doi ve ark, karaciğerdeki IR hasarın metastatik süreci hızlandırdığını; uzun iskemi sürecinde E-selektin ekspresyonunun uyarıldığını ve böylece kolan kanseri hücrelerinin metastazlarının kolaylaştığını saptamışlardır (10).

Kanser hücrelerinin metastazi; kanser hücresinin büyümesini, yaşamını sürdürmesini, motiliteyi ve invazyonu içeren karmaşık bir süreçtir. Tümör hücrelerinin karaciğerde kolonize olabilmeleri sinozoid içinde yaşayan tümör hücrelerinin sayısı ile doğru orantılıdır. Tümörün ortasında bulunan hücrelerde, karaciğerin sinozoid ve terminal portal venlerinden kan akışının yeniden sağlanması ile mikroskobik enfarktüs oluşur. Bunun nedeni tümör hücresinde meydana gelen I/R ürünü olan oksijen ve nitrojen radikalleridir. İskemi ve reperfüzyon süreçlerinde metastatik karsinoma hücrelerinin yaşama hızının, zayıf olanlara göre on kat daha fazla olduğu gözlenmektedir. Ancak, IR sırasında tümör hücrelerinin serbest radikallere karşı olan bu direncinin arkasındaki moleküler mekanizmalar henüz açıklanamamıştır (11). Bu noktada, hipoksiye maruz kalan tümör hücrelerinin kazandığı malign fenotip ile IR alanında hızlanan metastatik süreçleri kavram olarak farklı olduklarını belirtmek gerekir. Hipoksik tümörlerin agresiv karakteri, bu yazının dışındaki bir konudur, ancak reperfüzyonsuz hipoksi ve metastaz ilişkisi yazının son bölümünde yer almaktadır.

İskemi-reperfüzyon hasarının karaciğerde kupffer hücrelerine bağımlı başlangıç fazı ve nötrofil bağımlı son fazı olmak üzere iki temel fazı bulunmaktadır. Başlangıç fazı boyunca Nükleer Faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) gibi transkripsiyonel faktörler kupffer hücrelerinde aktive olmakta; daha sonra bu hücrelerden bol miktarda Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF- $\alpha$ ), İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve Makrofaj İnflamatuvar Protein-2 (MIP-2)'yi içeren proin-flamatuvar sitokin, serbest oksijen radikalleri ve adezyon molekülleri

serbest salınmaktadır. Bu mediatörler, iskemik karaciğerde nötrofil sekestrasyonunu kolaylaştırırlar. Ardından gelen nötrofil bağımlı fonksiyon kaybı boyunca, serbest oksijen radikalleri ve nötrofillerden proteazlar salınır (12). Transkripsiyonel faktörler ve salınan bazı sitokinler, tümör hücrelerinin lokal invazyon patogeneğinde de değişik derecelerde rol almaktadır. Ancak, tümör hücrelerinin hücreler arası matriks yapılarında tutunması ve hareketliliği esas olarak, bu bölgelerdeki proteinler ve özel enzimlerle sağlanır.

### A. Metalloproteinazlar ve Metastaz

Kanser hücreleri, bir taraftan kendi hücre iskeletlerinde sentezledikleri kontraktıl proteinleri ve hücre membranlarında oluşturduğu ayaklı çıkıntılar ile hareketlilik kazanırken; öte taraftan hücreler arası matriks proteinlerine (matriks metalloproteinleri) yapışmayı sağlamak amacıyla bazı yapışma (adezyon) molekülerli de sentezler. Bu moleküllerin arasında ilerleyebilmek ve yuvarlanabilmek için, hücrenin bir bölümüyle matriks proteinine bağlanırken bir bölümüyle de daha önce bağlandığı noktayı koparmak için matriks metalloproteinazları sentezler ve salgılar.

Matriks Metalloproteinazlar (MMPs), membran yapılarında ve hücrelerarası matrikste bulunan kollajen, laminin, proteoglikan gibi yapıları yıkıma uğratan endopeptidazlardır (13). İnflamasyonda, neoplastik invazyonda ve metastazda esas rolü bu enzimler oynamaktadır ve kofaktör olarak çinkoya ihtiyaç duyarlar. Etki ettiği protein türüne göre, Kolajenaz (MMP-11, MMP-8 ve MMP-13), Jelatinaz (MMP-2 ve MMP-9) ve Stromelisin (MMP-3) olarak sınıflandırılmaktadır. Bu enzimler tümör invazyonu dışında kalpte, akciğerler ve beyinde I/R hasarında önemli rol oynarlar (12). MMP-1 (interstitial kolajenaz) agresiv tümörlerde sıkça bulunur. Tümör oluşumunun başlangıcında ve invazyonunda temel faktör olmayabilir. Fakat tümörlerin başlangıç dışındaki diğer ileri aşamalarında etkin rol oynar (14). MMP-1 dokular arasındaki en yaygın stromal yapı olan kollajen I-II-III türlerinin yıkımından başlıca rol alan enzimdir (13). Gastrik kanser, meme kanseri, baş ve boyun yassı hücreli karsinomaları, kolon karsinomaları, pankreas adeno karsinomalarında ve akciğer karsinomaları gibi çeşitli doku tümörlerinde MMP-1 aktif rol oynamaktadır (15-21). Kötü prognoza sahip tümörlerde

yüksek seviyede MMP-1 ekspresyonu gözlenmektedir (22,23). Ayrıca MMP-1 seviyelerindeki artışa metastatik tümörlerde ve bazı hücre hatlarında da rastlanmaktadır (14).

Son zamanlarda potansiyel tümör progresyonunun MMP-1'in ekspresyon seviyelerinin artması ile tetiklendiği gösterilmiştir. Bu etkileşim MMP-1 promotörlerinde yapılan genetik varyasyon analizleri yoluyla kanıtlanmıştır. Genetik varyasyon SNP (Tek Nükleotid Polimorfizm) 1607 bp de lokalize olmuş MMP-1 promotörlerinde gösterilmiştir. Promotör bölgede bir tane guanin (G) bazı eksilmiştir. Bu durumda transkripsiyon faktörü 5'-GGAT-3' gen sekansına bağlanarak MMP-1 transkripsiyonunu artırır. SNP sonucu bazı tümör hücrelerinde genetik varyasyon ve mutasyon ender olmayan şekilde gözlenmiştir. SNP'nin normal populasyonda dağılımı yaklaşık olarak %30 1G, %30 2G, %40 1G/2G'dir. Bununla birlikte sekiz tümör hücre kültürünün in vitro koşullarda %62 2G polimorfizmine sahip olduğu ortaya konmuştur (24). Bu bilgiler over kanseri, kutanöz malign melanoma, melanoma, akciğer kanseri, böbrek hücre karsinoması, kolorektal kanseri ve endometriyal kanser hastalarında yapılan çalışmalarla onaylanmıştır (25-32).

Öte yandan Süperoksit Dismutaz 2'nin (Sod2) ekspresyonu ile metastatik invazyon arasında da doğrudan bir bağlantı olduğu söylenebilir. Çeşitli çalışma grupları Sod2 seviyelerinden prognostik parametre olarak faydalanılabileceğini klinik bulgularla göstermişlerdir. Jansen ve ark 81 mide adenokarsinomaları değerlendirmişler ve Sod2 seviyelerinin sağlıklı dokulara göre anlamlı oranda arttığını gözlemlemişlerdir (34). Sod2'nin ekspresyonunun gastrik tümörlerde metastatik hücrelerde %93, non-metastatik hücrelerde ise %44 arttığı ortaya konmuştur (35). MMP enzimlerinin sentezi ile Sod2 arasındaki ilişkide serbest radikaller de rol alır. Serbest radikaller ile MMP-1 ekspresyonu arasındaki ilişkide ise karşımıza bir kaskat mekanizması çıkmaktadır. I/R sonrasında oluşan süper oksit radikali Sod2 salınımını artırır. Sod2 enzimi, süper oksit moleküllerinin hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) dönüşümünü hızlandırır. Artan  $H_2O_2$  molekülleri de MMP-1 enziminin sentezini indükler. Bu şekilde tümör hücrelerinin invazyon yetenekleri Sod2 enzimi artışı ile dolaylı yolla artmaktadır (36,37). Ayrıca Nelson ve Melendez Sod2'nin fare

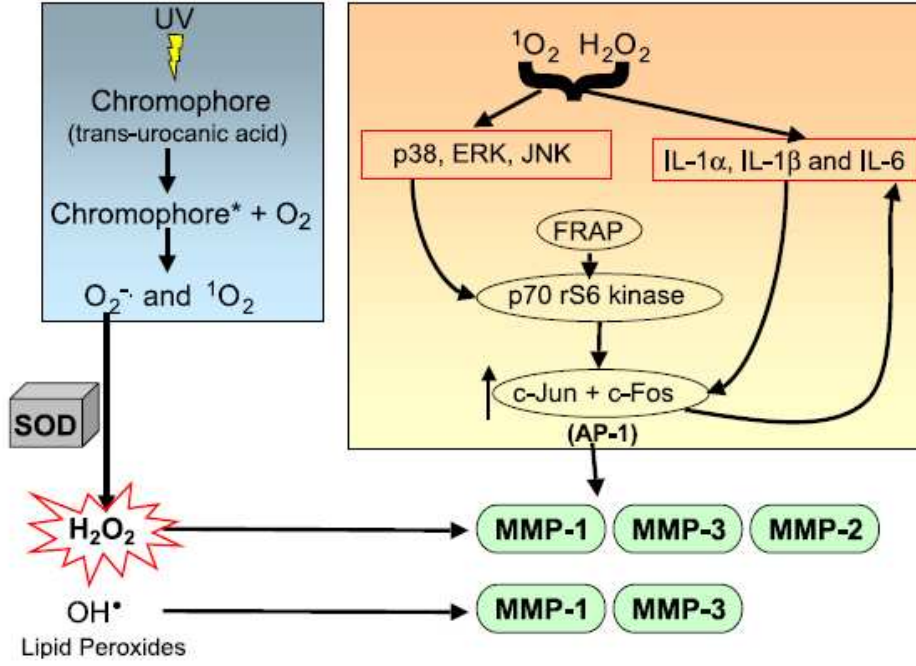
embriyonik fibroblastlarında MMP-1 ekspresyonu için zorunlu olduğunu göstermişlerdir (36). Sod2 enzimi aynı zamanda 2G polimorfizmini içeren MMP-1 promotörlerinin transkripsiyonunu artırır. Bu şekilde artmış metastaz insidansı ile ilişki kurulabilir (27). Antioksidanlardan fakir diyetle beslenen premenapozal kadınlarda yapılan vaka kontrollü bir klinik çalışmada Sod2 polimorfizminin Sod2 aktivasyonuna neden olduğu ortaya konmuştur (38). Sod2 aktivitesi ile MMP-1 ekspresyonunun yüksekliği kanser insidansının artışı ile ilişkilendirilmektedir. Gelecekte bu iki alellik polimorfizmin hastalarda saptanabilmesi, metastatik kanser gelişim riskini tanımlamakta kullanılabilir (14).

Matriks Proteinaz (MMP) ekspresyonunun redoks bağımlı değişimi kanser araştırmalarının niteliğini değiştirmiştir. Sod2, büyüme faktörü ve sitokinler gibi hücrelerarası uyarıcıların salınımından sorumlu birkaç enzimden biridir. Forbol 12-miristat 13-asetat (PMA) ve UV radyasyon hücrelerarası uyarıcı olarak görev yaparken (39,40), TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 hem ekstraselüler uyarıcı hem de proinflamatuvar sitokin görevini üstlenir (41-43). Proinflamatuvar sitokinler çeşitli hücrelerden enfeksiyon, doku hasarı ve diğer çevresel uyarıcılara yanıt olarak salınırlar. Sonuçta mikroçevrede Sod2 enzim ekspresyonunu dolaylı MMP'lerin transkripsiyonunu tetiklerler (44) (Şekil 2).

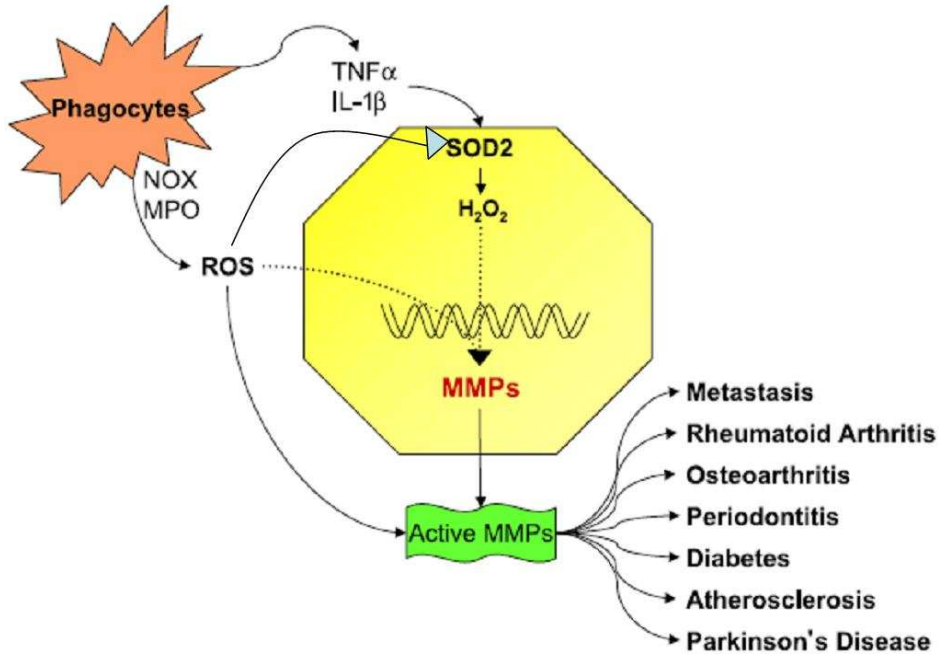
Tümör hücrelerinde MMP-1 enziminin yanı sıra jela-tinaz enzimi olan MMP-9, Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF) ve Vasküler Endotelial Büyüme Faktörününün (VEGF) salınımı tümör hücrelerinin ilerlemesini sağlamaktadır (45) (Şekil 3).

## B. Metalloproteinaz İnhibitörleri

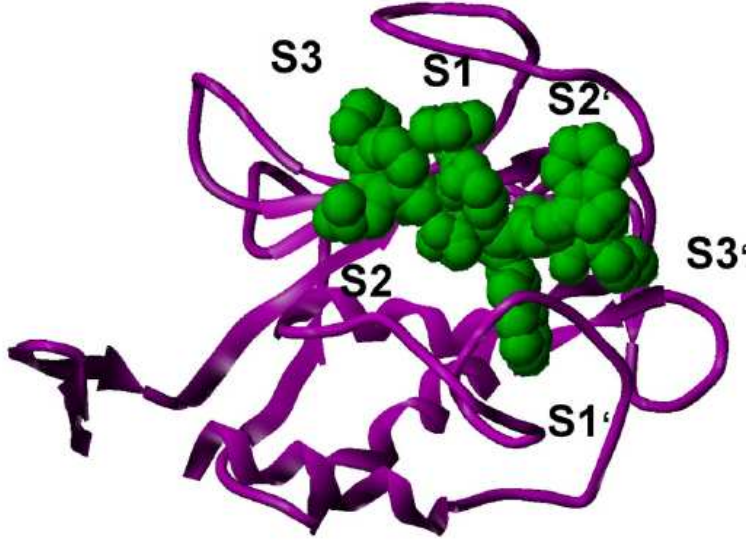
Günümüzde yapılan çalışmalar I/R'yi önlemekten çok sonuçlarını minimize etmeyi hedeflemektedir. Bu amaçla çalışılan konulardan birisi de MMP enzimlerini inhibi etmektir. Kanser araştırmalarına yönelik olarak yapılan farmasötik araştırmalarda MMP enzimlerinin aktif bölgelerini hedef alan küçük molekül boyutlu inhibitörlerin geliştirilmesi hedeflenmektedir (46). Bu moleküllerle çeşitli kanser türlerinde yapılan ön klinik çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmiştir (47,48). Günümüzde inhibitörlerin tasarımında MMP'lerin üç boyutlu yapısından yararlanılmaktadır (46,49,50), (Şekil 4).



**Şekil 2.** UV Radyasyonla MMP salınımının indüklenme modeli



**Şekil 3.** Radikal oksijen türleri ile aktifleşen MMPIler metastaz dahil bazı hastalıkların patogenezinde rol alır



**Şekil 4.** MMP enzimlerini oluşturan karakteristik katmanların sekonder yapısının gösterimi. Sekonder yapıda gösterilen altı bölge MMP'lere inhibitörlerin bağlanmasının hedeflendiği bölgelerdir

Yapay inhibitörlerin yanında organizmanın kendisi tarafından sentezlenen inhibitörler de bulunmaktadır. Bunların en bilinenleri, *Doku Metalloproteinaz Enzimi İnhibitörleridir (TIPMs)*. TIMP'ler metalloproteinazlarla birebir oranında reaksiyona girerler ve dört türü tanımlanmıştır (*TIMP-1,-2,-3,-4*) (51). TIMP'lerin hepsi MMP'leri inhibe ederken TIMP-1, Trans Membran Protein-1 (MT1-MMP)'i yıkan enzimi inhibe edememektedir (52).

*Plazma α2-Macroglobulinler* genel bir endopeptidaz inhibitörüdürler (53); MMP-1 ile TIMP-1'e göre daha hızlı reaksiyona girerler (54).

*Doku Faktör Metabolik Yolu İnhibitörü-2 (Tissue Factor Pathway Inhibitor-2)*, serin proteaz inhibitörü olduğu gibi aynı zamanda MMP'leri de inhibe eder (55).

*Membran Yerleşimli Glikoprotein (RECK)*, MMP-2,-9 ve MT1-MMP'in proteolitik aktivitesini inhibe eder (56).

Tüm bu endojen inhibitörlerin yanında akrebin ürettiği ve toksin etkiye sahip olan *Klorotoksin* maddesi de MMP-2'yi inhibe edebilmektedir (57).

Kanser ve artrit uygulamaları için çeşitli evrelerde klinik uygulamaları bulunan MMP enzim inhibitörler örnekleri Tablo I'de sunulmuştur (50).

## HİPOKSİ VE KANSER

Reperfüzyonsuz hipoksi ve kanser ilişkisi, üzerinde genişçe çalışılmakta olan bir diğer çalışma alanıdır. Genel inanış, "lokal ileri kanser" tiplerinde hipoksinin temel patofizyolojik etmen olduğu şeklindedir (58). Öyle ki, lokal ileri aşamadaki pek çok tümör tipinde, tümör dokusunda % 60 a varan oranda hipoksi bulunmaktadır. Bu durum, saldırgan karakterli tümörlerde angiogenezin yoğun olduğu göz önüne alındığında çelişkili görünebilir. Ancak tümör içerisindeki damarlanma yapısal ve işlevsel olarak normal değildir. Yani tümör hücrelerinin metabolik ihtiyaçlarını karşılamak bakımından yeterli değildir (Perfüzyon kısıtlı hipoksi). Öte yandan tümör kitlesinde difüzyon geometrisi ciddi anlamda bozulmuştur (difüzyon kısıtlı hipoksi). Genellikle, en azından geçici bir süre içerisinde, tümör içerisindeki mikro-damarlanmada kandan çok plazma perfüze edilmektedir (58).

**Tablo I.** MMP inhibitörleri ve klinik uygulama alanları

MMP inhibitörü	Üretici firma	Kullanım alanı	Çalışma fazı
ABT-518	Abbott	Kanser	Faz-1
AG-3340 (Prinomastat)	Agouron	Kanser	Faz 3
		Makula Dejenerasyonu	Faz 2
AG-3433	Agouron	Kanser	Faz 1
BAY 12-9566	Bayer	Kanser	Faz 3
		Artrit	Faz 2
BB-94 (Batimastat)	Brit. Biotech	Kanser	Faz 2
BB-2516 (Marimastat)	Brit. Biotech	Kanser	Faz 3
BB-3644	Brit. Biotech	Kanser	Faz 1
CGS-27023A	Novartis	Kanser	Faz 1
		Artrit	Faz 1
D-1927	Chiroscience	Kanser	Preklinik
		İnflamasyon	Faz 2
D-2163 (BMS-275291)	Chiroscience	Kanser	Faz 3
Metastat	CollaGenex	Kanser	Preklinik

Hipoksiye maruz kalan tümör hücrelerinin daha saldırgan fenotipe dönüştüğü ve hipoksinin, tümör kitlesinin belirli hücre gruplarında, tümör progresyonuna yol açtığı konusu hemen hemen belirginleşmiş durumdadır. Polarografik iğne elektrodları kullanılarak tümör içerisindeki oksijenizasyon incelendiğinde, birçok tümör türü için hipoksinin prognostik önemi olduğu ya da başka bir deyişle, hipoksinin sağkalımı etkilediği anlaşılmaktadır. Biyokimyasal açıdan 2 patofizyolojik mekanizmanın bu aşamada rol oynadığına inanılmaktadır. Bunlardan birisi Hipoksi-Uyarımlı-Faktör 1 (HIF-1, hypoxia-inducible factor 1) sistemi, diğeri ise Glukoz taşıyıcı proteinlerin (GLUT) yeniden düzenlenmesidir. Bu iki sistem son dönemlerde, kanserin tedavi hedefleri kapsamına alınmışlardır.

#### A. HIF Sistemi ve Karsinogenez

Bu sistem, alfa (HIF-1 $\alpha$ ) ve beta (HIF-1 $\beta$ ) olmak üzere 2 alt ünitelerden oluşan, bir transkripsiyon faktörüdür. Oksijenlenmenin normal olduğu koşullarda HIF-1 $\beta$  tüm hücrelerde stabil durumda kalırken; HIF-1 $\alpha$  hızla ubikinonlanır ve yıkılır. Hipoksi koşulları oluştuğunda ise, HIF-1 $\alpha$  heterodimerizasyonu oluşur ve bu oluşum, DNA üzerindeki yanıt genlerini harekete geçirecek transkripsiyonu başlatır. Meme, prostat, akciğer, baş-boyun kanseri gibi en çok rastlanan kanser türlerinde ve bunların metastazlarında çok yüksek oranda HIF-1 $\alpha$  ekspresyonuna rastlanmaktadır (59). Karsinogenik süreçlerde çeşitli şekillerde rol

oynayan büyüme faktörleri, nitrik oksit ve hormonlar bir şekilde HIF-1 $\alpha$  nın stabilize edilmesine yardımcı olurlar. Dahası hipoksi ile stabilize olan HIF-1 $\alpha$  mono/ heterodimerleri, endotelinlerin ve daha önceki bölümlerde sözü edilen MMP'lerin aktifleşmesinde doğrudan rol alırlar. Başka bir deyişle tümörlerin pre-invaziv aşamaya geçişini sağlamaktadır (60). Bu özellikleri ile kanserin hedef tedavileri kapsamına alınmışlardır. HIF-1 sistemini bloke edecek, COX-2 inhibitörleri, Siklosporin A, Rapamisin gibi birçok hedef ajan bu yönüyle denenmektedir. Hatta gen tedavisi seçenekleri denenmektedir. Örneğin tümör içerisine plazmid ile anti-sense HIF-1 $\alpha$  transferi ile anjiyojenik karakterli tümörlerin "non-anjiyojenik" yapıya dönüşümü deneysel olarak başarılmakta ve tümörlerin metastaz kapasitesinin baskılanması hedeflenmektedir (59).

#### B. Glukoz Taşıyıcı Proteinler (GLUT)

Kanser hücrelerinin en önemli özelliklerinden bir tanesi de hızlandırılmış bir glikolizin varlığıdır. Bunun yanında glikoz metabolizması önemli ölçüde değişime uğramıştır (61). Kanser hücrelerinde artmış glikoz transportu, halen 13 üyesi saptanan glikoz taşıyıcı proteinlerle sağlanmaktadır. Hipoksik koşullar glikoz kullanımını ve GLUT-1 düzeylerini arttırmaktadır (61). Meme tümör hücrelerinin çoğalmasında rol oynayan östradiol ve epidermal büyüme faktörü, bu tümör hücrelerinde glikoz tüketimini arttırmakta ve GLUT-12 proteininde artışa yol açmaktadır. Gerek



immunokimyasal, gerekse moleküler analitik incelemelerde, birçok saldırgan tümör tipinde GLUT-1 düzeylerinin olumsuz prognoza sahip olduğu gözlenmektedir (58). Bu özellik, tanısal amaçlı nükleer tıp incelemelerinde çok geniş yarar sağlamaktadır. Bu alanda FDG adı verilen bileşik ( $^{18}\text{F}$ - işaretli 2-floro-2-deoksi glikoz) tümör hücrelerinde çok yüksek oranda akümüle olmakta; tümör sintigrafisinde ya da pozitron emisyon tomografisi adı verilen (PET) tümoral görüntüleme de bu mekanizma sayesinde kullanılmaktadır. Tümör dokularının moleküler görüntülenmesi, üzerinde çok yoğun çalışılan bir konudur ve bu nedenle kanser dokusu ve hipoksi mekanizmaları ya da reperfüzyonun etkileri aydınlatılmaya çalışılmaktadır.

Sonuç olarak, iskemi-reperfüzyon hasarı ve hipoksi karsinogenezin seyirinde ve tümörlerin davranış değiştirilmesinde ve hatta metastazında kritik rol oynamaktadır. Bu yeni açıklanan mekanizmaların bilinmesi kansere yönelik birçok tedavi ve tanı modelinin gelişmesinde katkı sağlayacaktır.

#### KAYNAKLAR

- Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. *Microsurgery* 2004;24: 468-475.
- Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 1993;14:165-175.
- Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*, 2000;190: 255-266.
- Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surg* 1983;198:87-90.
- Knight KR, Angel MF, Lepore DA et al. Secondary ischaemia in rabbit skin flaps: the roles played by thromboxane and free radicals. *Clin Sci* 1991;80:235-240.
- Morris SF, Pang CY, Zhong A, Boyd B, Forrest CR. Assessment of ischemia-induced reperfusion injury in the pig latissimus dorsi myocutaneous flap model. *Plast Reconstr Surg* 1993;92:1162-1172.
- İşlekel H, İşlekel S, Güner G. Biochemical Mechanism and Tissue Injury of Cerebral Ischemia and Reperfusion Part II: Tissue Injury. *Journal of Neurological Sciences (Turkish)*. *Norol Bil D* 2000;17: 2.
- Simon RJ Maxwell, Gregory YH Lip. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *International Journal of Cardiology* 1997;58:95-117.
- Fouad Amr A, El-Rehany M, Abdel-Aziz, Maghraby HK. The hepatoprotective effect of carnosine against ischemia/reperfusion liver injury in rats. *European Journal of Pharmacology* 2007, 572:61-68.
- Doi K, Horiuchi T, Uchinami M et al. Hepatic Ischemia-Reperfusion Promotes Liver Metastasis of Colon Cancer. *J Surg Res* 2002;15:243-247.
- Moon B-K, Lee YJ, Battle P, Jessup JM, Raz A, Kim H-R C. Galectin-3 Protects Human Breast Carcinoma Cells against Nitric Oxide-Induced Apoptosis. *American Journal of Pathology* 2001; 59: 1055-1060.
- Shirahane K, Yamaguchi K, Koga K, Watanabe M, Kuroki S, Tanaka M. Hepatic ischemia/reperfusion injury is prevented by a novel matrix metalloproteinase inhibitor, ONO-4817. *Surgery* 2006;139:653-664.
- Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol* 2000;18:1135-1149.
- Nelson KK, Melendez JA. Mitochondrial Redox Control Of Matrix Metalloproteinases. *Free Rad Biol & Med* 2004; 37:768 -784.
- Murray GI, Duncan ME, Arbuckle E, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. *Gut* 1998;43:791- 797.
- Remacle AG, Noel A, Duggan Cet al. Assay of matrix metalloproteinases types 1, 2, 3 and 9 in breast cancer. *Br J Cancer* 1998;77:926- 931.
- Jung K, Nowak L, Lein M, Priem F, Schnorr D, Loening SA. Matrix metalloproteinases 1 and 3, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and the complex of metalloproteinase-1/tissue inhibitor in plasma of patients with prostate cancer. *Int J Cancer* 1997;74:220- 223.
- Johansson N, Airola K, Grenman R, Kariniemi AL, Saarialho-Kere U, Kahari VM. Expression of collagenase-3 (matrix metalloproteinase-13) in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Am J Pathol* 1997; 151:499- 508.
- Onisto M, Garbisa S, Caenazzo C et al. Reverse transcription-polymerase chain reaction phenotyping of metalloproteinases and inhibitors involved in tumor



- matrix invasion. *Diagn Mol Pathol* 1993;2:74-80.
20. Ito T, Ito M, Shiozawa J, Naito S, Kanematsu T, Sekine I. Expression of the MMP-1 in human pancreatic carcinoma: relationship with prognostic factor. *Mod Pathol* 1999;12:669-674.
  21. Bolon I, Gouyer V, Devouassoux M et al. Expression of cets-1, collagenase 1, and urokinase-type plasminogen activator genes in lung carcinomas. *Am J Pathol* 1995; 147:1298-1310.
  22. Westermark J, Kahari VM. Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J* 1999;13:781-792.
  23. Murray GI, Duncan ME, O'Neil P, McKay JA, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in oesophageal cancer. *J Pathol* 1998;185:256-261.
  24. Rutter JL, Mitchell TI, Buttice G et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter creates an Ets binding site and augments transcription. *Cancer Res* 1998;58:5321-5325.
  25. Kanamori Y, Matsushima M, Minaguchi T et al. Correlation between expression of the matrix metalloproteinase-1 gene in ovarian cancers and an insertion/deletion polymorphism in its promoter region. *Cancer Res* 1999;59:4225-4227.
  26. Ye S, Dhillon S, Turner SJ et al. Invasiveness of cutaneous malignant melanoma is influenced by matrix metalloproteinase-1 gene polymorphism. *Cancer Res* 2001;61:1296-1298.
  27. Noll WW, Belloni DR, Rutter JL et al. Loss of heterozygosity on chromosome 11q22-23 in melanoma is associated with retention of the insertion polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter. *Am J Pathol* 2001;158:691-697.
  28. Zhu Y, Spitz MR, Lei L, Mills GB, Wu X. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter enhances lung cancer susceptibility. *Cancer Res* 2001;61:7825-7829.
  29. Hirata H, Naito K, Yoshihiro S, Matsuyama H, Suehiro Y, Hinoda YA. Single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter is associated with conventional renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2003;106:372-374.
  30. Hinoda Y, Okayama N, Takano N et al. Association of functional polymorphisms of matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 genes with colorectal cancer. *Int J Cancer* 2002;102:526-529.
  31. Ghilardi G, Biondi ML, Mangoni J et al. Matrix metalloproteinase-1 promoter polymorphism 1G/2G is correlated with colorectal cancer invasiveness. *Clin Cancer Res* 2001;7:2344-2346.
  32. Nishioka Y, Kobayashi K, Sagae S et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter in endometrial carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 2000;91:612-615.
  33. Nicoud IB, Jones CM, Pierce JM et al. Warm hepatic ischemia-reperfusion promotes growth of colorectal carcinoma micrometastases in mouse liver via matrix metalloproteinase-9 induction. *Cancer Res* 2007;67:2720-2728.
  34. Janssen AM, Bosman CB, van Duijn W et al. Superoxide dismutases in gastric and esophageal cancer and the prognostic impact in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:3183-3192.
  35. Malafa M, Margenthaler J, Webb B, Neitzel L, Christophersen M. MnSOD expression is increased in metastatic gastric cancer. *J Surg Res* 2000;88:130-134.
  36. Nelson KK, Ranganathan AC, Mansouri J, et al. Elevated sod2 activity augments matrix metalloproteinase expression: Evidence for the involvement of endogenous hydrogen peroxide in regulating metastasis. *Clin Cancer Res* 2001;1:424-432.
  37. Wenk J, Brenneisen P, Wlaschek M et al. Stable overexpression of manganese superoxide dismutase in mitochondria identifies hydrogen peroxide as a major oxidant in the AP-1-mediated induction of matrix-degrading metalloproteinase-1. *J Biol Chem* 1999; 274: 25869-25876.
  38. Ambrosone CB, Freudenheim JL, Thompson PA et al. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer Res* 1999;59:602-606.
  39. Fujii J, Taniguchi N. Phorbol ester induces manganese-superoxide dismutase in tumor necrosis factor-resistant cells. *J Biol Chem* 1991;266:23142-23146.
  40. Murley JS, Kataoka Y, Weydert CJ, Oberley LW, Grdina D J. Delayed cytoprotection after enhancement of Sod2

- (MnSOD) gene expression in SA-NH Mouse sarcoma cells exposed to WR-1065, the active metabolite of amifostine. *Radiat Res* 2002;158:101–109.
41. Wong GHW, Goeddel DV. Induction of manganous superoxide dismutase by tumor necrosis factor: possible protective mechanism. *Science* 1998;242:941–944.
  42. Masuda A, Longo DL, Kobayashi Y, Appella E, Oppenheim JJ, Matsushima K. Induction of mitochondrial manganese superoxide dismutase by interleukin 1. *FASEB J* 1988;2:3087–3091.
  43. Tsan MF, White JE, Del Vecchio PJ, Shaffer JB. IL-6 enhances TNF- $\alpha$ - and IL-1-induced increase of Mn superoxide dismutase mRNA and O<sub>2</sub> tolerance. *Am J Physiol* 1992;263:22–26.
  44. Lavrovsky Y, Chatterjee B, Clark RA, Roy AK. Role of redox-regulated transcription factors in inflammation, aging and age-related diseases. *Exp Gerontol* 2000;35:521–532.
  45. Malemud CJ. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview. *Front Biosci* 2006;11:1696–701.
  46. Skiles JW, Gonnella NC, Jeng AY. The design, structures and clinical update of small molecular weight matrix metalloproteinase inhibitors. *Curr Med Chem* 2004;11:2911–2977.
  47. Overall CM, Lopez-Otin C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nature Rev Cancer* 2002;2:657–672.
  48. Coussens LM, Fingleton B, Matrisian LM. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science* 2002;295:2387–2392.
  49. Matter H, Schudok M. Recent advances in the design of matrix metalloprotease inhibitors. *Curr Opin Drug Discovery Dev* 2004;7:513–535.
  50. Rao BG. Recent development in the design of specific matrix metalloproteinase inhibitors aided by structural and computational studies. *Curr Pharm Des* 2005;11:295–322.
  51. Murphy G, Houbrechts A, Cockett MI, Williamson RA, O'Shea M, Docherty AJ. The N-terminal domain of tissue inhibitor of metallopro-teinases retains metalloproteinase inhibitory activity. *Biochemistry* 1991;30:8097–8102.
  52. Will H, Atkinson SJ, Butler GS, Smith B, Murphy G. The soluble catalytic domain of membrane type 1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of progelatinase A and initiates autoproteolytic activation: regulation by TIMP-2 and TIMP-3. *J Biol Chem* 1996;271:17119–17123.
  53. Barrett AJ. 2-Macroglobulin. *Methods Enzymol.* 1981;80:737–754.
  54. Cawston TE, Mercer E. Preferential binding of collagenase to  $\alpha$ 2-macroglobulin in the presence of the tissue inhibitor of metallopro-teinases. *FEBS Lett* 1986;209:9–12.
  55. Herman MP, Sukhova GK, Kisiel W et al. Tissue factor pathway inhibitor-2 is a novel inhibitor of matrix metalloproteinases with implications for atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001;107:1117–1126.
  56. Oh J, Takahashi R, Kondo S et al. The membrane-anchored MMP inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis. *Cell* 2001;107:789–800.
  57. Deshane J, Garner CC, Sontheimer H. Chlorotoxin inhibits glioma cell invasion via matrix metalloproteinase-2. *J Biol Chem* 2003;278:4135–4144.
  58. Vaupel P, Mayer A. Hypoxia in cancer: significance and impact on clinical outcome *Cancer Metastasis Rev* 2007;26:225–239.
  59. Stefan AMP, Simons JW, Mabeesh NJ. HIF at crossroads between ischemia and carcinogenesis. *J Cell Physiol* 2004;200:20–30.
  60. Grimshaw MJ. Endothelins and hypoxia-inducible factor in cancer. *Endocr Related Cancer* 2007;14:233–244.
  61. Macheda ML, Rogers S, Best JD. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer. *J Cell Physiol* 2005;202:654–662.
  62. Bernard P. Insight into the structural determinants for selective inhibition of matrix metalloproteinases. 2007;12:640–646.
  63. Wada CK. The evolution of the matrix metalloproteinase inhibitor drug discovery program at abbott laboratories. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2004;4:1255–1267.
  64. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005;9:267–285.