Derleme

İskemi-Reperfüzyon ve Kanser Metastazı: Biyokimyasal Bakış

ISCHEMIA REPERFUSION AND CANCER METASTASIS: BIOCHEMICAL ASPECTS

Ferhat Can ÖZKAYA[1], Hilal KOÇDOR[2]

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. Iskemi-reperfuzyon ile tumor metastazi arasında da ilişkiler mevcuttur. Ancak bu konu yeterince aydınlatılamamıştır. Bu yazıda iskemi-reperfüzyon olayı ile kanser metastazı arasındaki ilişkilerin biyokimyasal pencereden açıklanması hedeflenmiştir.

Anahtar sözcükler: İskemi-reperfüzyon, metastaz

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

SUMMARY

Ischemia and reperfusion is a complex reaction that plays important roles on initial periods of various patophysiologic 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

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. Kanser hücrelerinin yerel ya da uzak yayılımında da, benzer patofizyolojik süreçler gözlenmekte; başka bir deyişle, İR metastatik süreçlerde de etmen olabilmektedir. Bu yazıda, İR'nin kanser metastazında oynadığı rollerin açılanması hedeflenmiştir.

Bilindiği üzere iskemi, kan ile birlikte dokuya ulaşması gereken substrat ve oksijenin bir şekilde engellenerek ulaşamaması veya kısıtlanması olarak tanımlanmaktadır. Kritik iskemi zamanı, iskemik hasarın doku tarafından tolere edilebildiği ve dolaşım sağlandığında canlılığını sürdürebildiği en uzun zaman dilimi olarak ifade edilir. Ortalama kritik iskemi 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 iskemiyle 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 inflamatuarların birikmesine, memb-

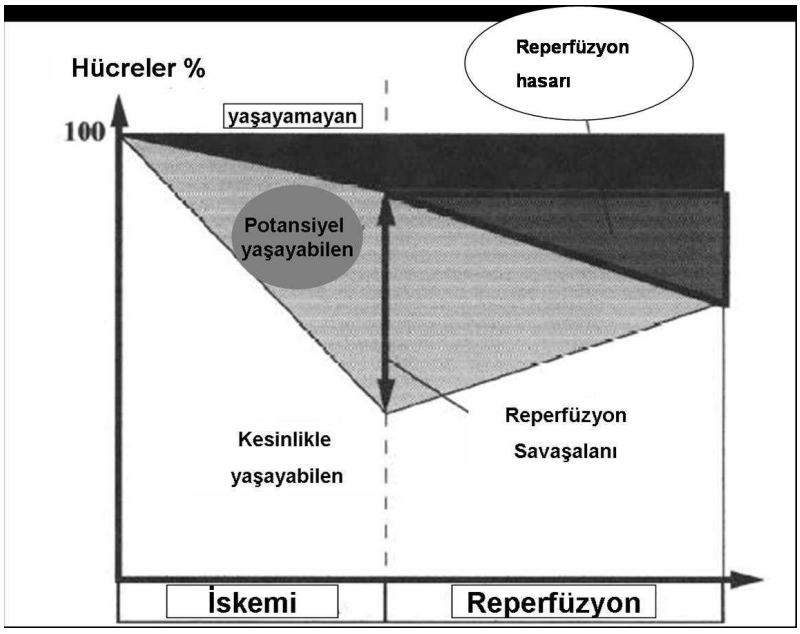
ranların işlev ve bütünlüğünün olumsuz etkilenmesine ve ayrıca hücre iskeletinin organizasyonunun bozulmasına neden olur. Tüm bu değişiklikler sırasında dokuların enerji depoları tükenirken, biyolojik olarak aktif ajanların (prostasiklin, nitrik oksit gibi) üretiminin azalır, doku için toksik yeni bileşiklerin 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 iskemi sırasında duran ya da yavaşlayan kan akışının yeniden normale dönmesidir. İskemik organda kan akışı her ne kadar normale dönse de iskemik organ, fonksiyonlarını kısmen geri kazanır. Kan akışı reperfüzyon ile düzenlenirken iskemi 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^-) en iyi bilinen serbest oksijen radikallerdir. 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 inflamatuar substratların iskemik alana ulaşımı da sağlanır. Aktifleşen nötrofiller ve inflamatuar 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 sonuclanir. Potansiyel olarak yaşabilen hücreler, reperfüzyon periyodunun "savaş alanından" sonra ya normal fonksiyonlarını kazanırlar ya da bu alandan nekroza uğrayarak çıkarlar. Başarılı bir reperfüzyonla, iskemiye uğramış tüm hücrelerin kurtarılma olasılığı düşüktür. Üstelik, IR sürecinden sonra yaşayan bazı hücrelerde çok uzun dönemde nekroz geliştiği gösteren kanıtlar mevcuttur.

İSKEMİ-REPERFÜZYON VE KANSER

İskemi-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 metastazı; kanser hücresinin büyümesini, yaşamını sürdürmesini, motiliteyi ve invazyonu içeren karmaşık bir süreçtir. Tümör hücrelerinin karaciğerde kolonize olabilmeleri sinozoid içinde yaşayan tümör hücrelerinin sayısıyla 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. Iskemi 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 bi konudur, ancak reperfüzyonsuz hipoksi ve metastaz ilişkisi yazının son bölümünde yer amaktadır.

İskemi-reperfüzyon hasarının karaciğerde kuppfer hücrelerine bağımlı başlangıç fazı ve nötrofil bağımlı son fazı olmak üzere iki temel fazı bulunmaktadır. Başlangıç fazı boyunca Nükleer Faktör kappa B (NF-**κ**B) gibi transkripsiyonel faktörler kuppfer hücrelerinde aktive olmakta; daha sonra bu hücrelerden bol miktarda Tümör Nekrozis Faktör Alfa (TNF-α), İnterlökin-1**β** (IL-1**β**) ve Makrofaj İnflamatuvar Protein-2 (MIP-2)'yi içeren proin-flamatuar 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 patogenezinde 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 kontraktil proteinleri ve hücre membranlarında oluşturduğu ayaksı çıkıntılar ile hareketlilik kazanırken; öte taraftan hücreler arası matriks proteinlerine (matriks metalloproteinlei) 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 kopramak 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, Kollejenaz (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 kollejenaz) 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 karsinomalarda ve akciğer

karsinomaları gibi çeşitli doku tümörlerinde MMP–1 aktif rol oynamaktadır (15–21). Kötü prognoza sahip tümörlerde yüksek seviyede MMP–1 ekspersyonu 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 Polimorfizim) 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 arttırır. 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).

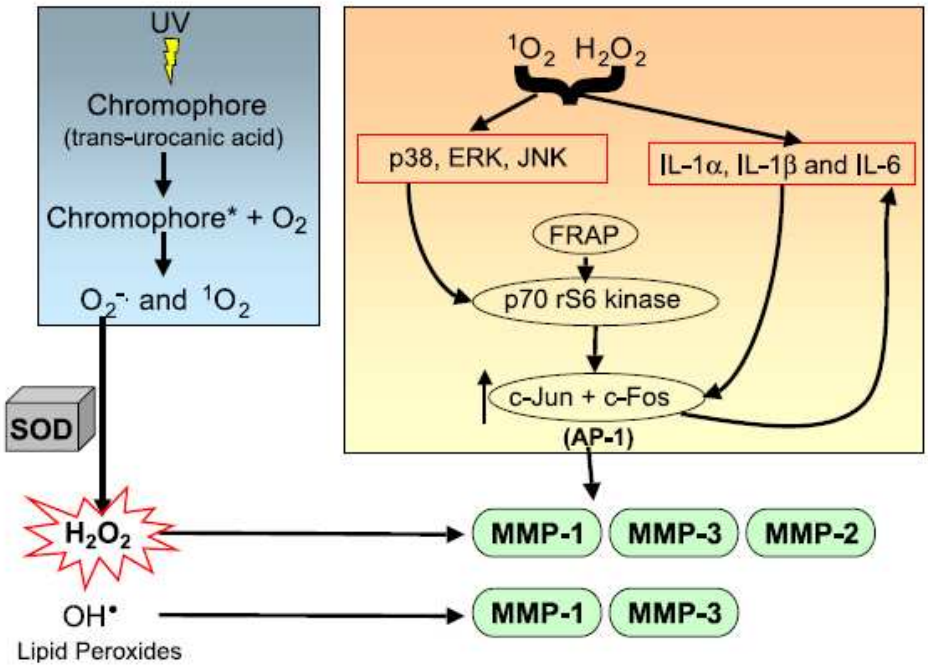
Öte yandan Süperoksit Dismutaz 2'nin (Sod2) ekspresyonu ile metastatik invazyon arasında da doğrudan bir bağlantı olduğu söylenebilir. Çeşitli çalışma grupları Sod2 seviyelerinden prognostik parametre olarak faydalanılabilineceğini klinik bulgularla göstermişlerdir. Jansen ve ark 81 mide adenokarsinomaları 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 arttırır. Sod2 enzimi, süper oksit moleküllerinin hidrojen peroksite (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 polimorfizimini içeren MMP–1 promotörlerinin transkripsiyonunu arttırır. 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 hücrelerarsı uyarıcı olarak görev yaparken (39,40), TNF-α, IL–1, IL–6 hem ekstraselüler uyarıcı hem de proinflamatuar sitokin görevini üstlenir (41-43). Proinflamatuar 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).

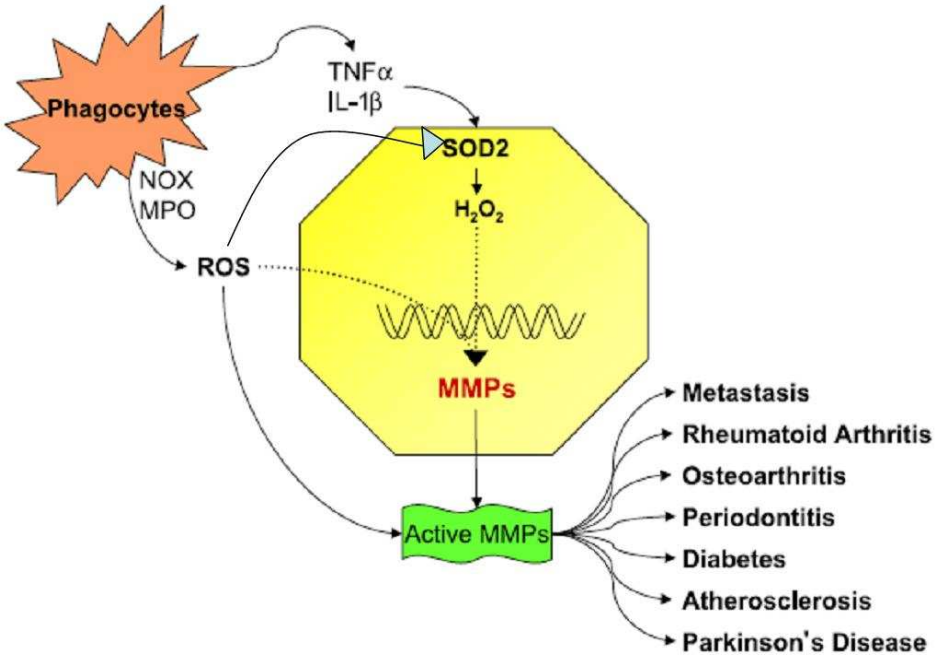
Tümör hücrelerinde MMP–1 enziminin yanı sıra jelatinaz enzimi olan MMP–9, Fibrolast Büyüme Faktörü (FGF) ve Vasküler Endoteliyal Büyüme Faktörününün (VEGF) salınımı tümör hücrelerinin ilerlemesini sağlamaktadır (45) (Şekil 3).

B. Metalloproteinaz İnhibitörleri

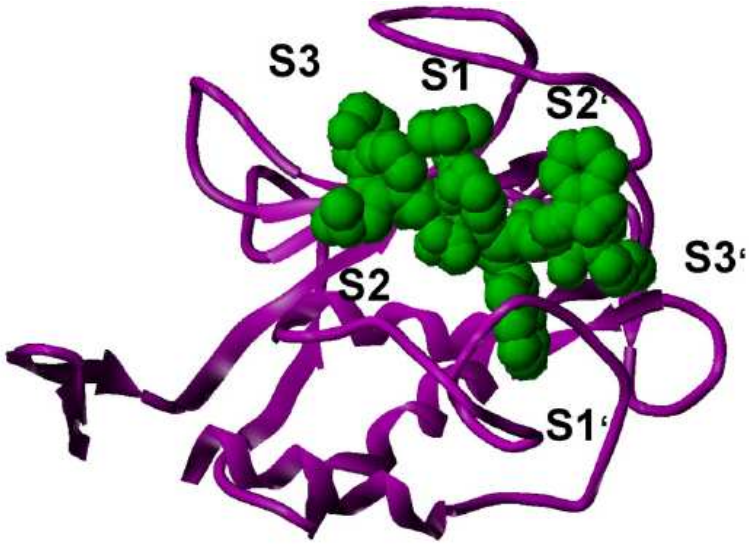
Günümüzde yapılan çalışmalar I/R'yi önlemekten çok sonuçlarını minimize etmeyi hedeflemektedir. Bu amaçla çalışılan konulardan birisi de MMP enzimlerini inhibi etmektir. Kanser araştırmalarına yönelik olarak yapılan farmasötik araştırmalarda MMP enzimlerinin aktif bölgelerini hedef alan küçük molekül 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 MMPler 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–1α) ve beta (HIF–1β) olmak üzere 2 alt üniteden oluşan, bir transkripsiyon faktörüdür. Oksijenlenmenin normal olduğu koşullarda HIF–1β tüm hücrelerde stabil durumda kalırken; HIF–1α hızla ubikinonlanır ve yıkılır. Hipoksi koşulları oluştuğunda ise, HIF–1α 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–1α ekspresyonuna rastlanmaktadır (59). Karsinogenik süreçlerde çeşitli şekillerde rol oynayan büyüme faktörleri, nitrik oksit ve hormonlar bir şekilde HIF–1α nın stabilize edilmesine yardımcı olurlar. Dahası hipoksi ile stabilize olan HIF–1α 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–1α transferi ile anjiojenik karakterli tümörlerin "non-anjiojenik" 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}F- işaretli 2-floro–2-deoksi glikoz) tümör hücrelerinde çok yüksek oranda akümüle olmakta; tümör sintigrafisinde ya da positron 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 seyrinde ve tümörlerin davranış değiştirmesinde ve hatta metastazında kritik rol oynamaktadır. Bu yeni açıklanan mekanizmaların bilinmesi kansere yönelik birçok tedavi ve tanı modelinin gelişmesinde katkı sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Siemionow M, Arslan E. Ischemia/reperfusion injury: A review in relation to free tissue transfers. Microsurgery 2004;24: 468-475.
2. Kerrigan CL, Stotland MA. Ischemia reperfusion injury: a review. Microsurgery 1993;14:165–175.
3. Carden DL, Granger DN. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. J Pathol, 2000;190: 255–266.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. Doi K, Horiuchi T, Uchinami M et al. Hepatic Ischemia–Reperfusion Promotes Liver Metastasis of Colon Cancer. J Surg Res 2002;15:243-247.
11. 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.
12. 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.
13. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. J Clin Oncol 2000;18:1135–1149.
14. Nelson KK, Melendez JA. Mitochondrial Redox Control Of Matrix Metalloproteinases. Free Rad Biol & Med 2004; 37:768 -784.
15. Murray GI, Duncan ME, Arbuckle E, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. Gut 1998;43:791- 797.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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. Westermarck J, Kahari VM. Regulation of matrix metaloproteinase 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 fort he involvement of endogenous hydrogen peroxide ın regulatıng 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 metalloprotease-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 O2 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 a2-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, Mabjeesh 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.