

Hücre Çoğalma Belirleyicilerinin Önemi ve Kullanım Alanları

IMPORTANCE AND USAGE OF THE CELL PROLIFERATION MARKERS

Murat TOSUN*, Emine TOSUN**, Mustafa Cihat AVUNDUK***

* Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Embriyoloji AD,

** Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,

*** Doç.Dr., Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD, KONYA

Özet

İçinde hücre çoğalma belirleyicilerinin de bulunduğu immunohistokimyasal yöntemlerin sayısal artışı ve çeşitlilik kazanması bize sadece tanısal yaklaşımları güçlendirme yanında prognostik özelliklerin tanınmasında da yardımcı olmaktadır. Bu hücre çoğalma belirleyicileri hücre siklusunun incelenip değerlendirilmesi yanında bu hücrelerden köken alan tümörlerin davranışları hakkında bilgi edinilmesi amacıyla da kullanılmaktadır.

Bu derlemede, öncelikle hücre, hücre siklusu ve mitoz bölünme kısaca izah edilmiş olup ilerleyen bölümlerde günümüzde bilinen tüm hücre çoğalma belirleyicileri tek tek son kaynaklar eşliğinde açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hücre Proliferasyon Markerları, Immunohistokimya, Hücre siklusu, Hücre çoğalması

T Klin Tıp Bilimleri 2001, 21:235-244

Summary

Increasing and variety of immunohistochemical markers, one group of which is cell proliferation markers have been helping us to not only strengthen diagnostic approach but also determine prognostic specialties. These cell proliferation markers are used to either analyzing and monitoring cell cycle and taking information from tumor, developed from these cells, behavior.

In this review, we described firstly cell, cell cycle and mitotic division in short and later explained all cell proliferation markers one by one in order to accompanying newest literature.

Key Words: Cell Proliferation Markers, Immunohistochemistry, Cell cycle, Cell proliferation

T Klin J Med Sci 2001, 21:235-244

Hücre %70'i sudan ibaret olan ve bu suyun içinde çözülmüş halde inorganik katyonların (hidrojen, potasyum, sodyum, kalsiyum, demir v.b.), anyonların (klorid, bikarbonat, hidroksil v.b) ve bunların yanında hücrenin hayatı ve fonksiyonları için gerekli enerji ve enzim sistemlerinin bulunduğu protoplazma ile organellerden ibaret en küçük yaşam birimi olarak tanımlanabilir. Tüm canlıların yaşamı ovum ve spermatozoa adı verilen iki adet hücrenin biraraya gelmesi ile başlar ve bu hücrelerin birbirleriyle birleşip bölünmesi, çoğalması ve büyümesi sonucu "canlı" meydana gelir. Dolayısıyla hücreden bir canlı oluşmasında hücrelerin bölünmesi sonucu çoğalması yani proliferasyonu çok önem taşımaktadır. Peki hücre çoğalmasının anlamı nedir? Aslında tüm hücre proliferasyonu gen transkripsiyonu, protein oluşturulması, organel hareketi ve hücre

hareketinden ibaret bir süreçtir. Ancak bu sürecin ilerlemesi oldukça iyi bir şekilde düzenlenmelidir ki bu sayede hücre farklı durumlara kolayca adapte olabilmeli ve bu sayede zarar görmemelidir. Nitekim bölünme ve çoğalma sürecinde olacak olan olayların kalıpları hücrede ve bilhassa çekirdekte depolanmış durumdadır. Örneğin hücre bölüneceğinde genler kopyalanıp replike edilir, hücre çekirdeği parçalanır, kromozomlar çiftleşerek birbirlerinden ayrılırlar ve hücre bölünerek iki farklı kardeş hücre meydana gelir. Tüm bu süreç hücre siklusu olarak adlandırılır ve hemen hemen tüm hücrelerde hayatları boyunca bir veya birkaç kez gerçekleşir. Örneğin vücuttaki birçok hücre sürekli olarak üretilip yenilenir. Bu hücrelere en iyi örnek olarak deri ve kan hücreleri verilebilir. Diğer bir takım hücreler nadiren proliferolurlar ve hayatları boyunca sadece bir kez bölünme gösterirler. Bu tip hücrelere örnek olarak da sinir hücreleri verilebilir. Bu hücreler intrauterin hayatta oldukça hızlı bölünme yeteneğine sahip olmalarına karşın doğum sonrasında bu özelliklerini büyük oranda yitirirler. Eğer bölünme sinyallerini alıp bölünmeye başlarsalarsa onlarca senede bölünmelerini tamamlayabilirler.

Geliş Tarihi: 11.07.2000

Yazışma Adresi: Dr.Murat TOSUN
Posta Kutusu:214
42002, Nalçacı, KONYA

Hücre proliferasyonu çok sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Bu kontrol çok sayıda protein (genler) tarafından sağlanmaktadır. Bu proteinlerde başka fosfat grupları gibi küçük yapıda moleküller tarafından uyarılmaktadır. Fosfat gruplarını diğer proteinlere bağlayan proteinler protein kinazlar adını alır. Protein kinazlardan meydana gelen ağ hücre fonksiyonlarının kompleks olarak kontrolünde çok önemli anahtar görevi görmektedir (1,2).

Hücre proliferasyonunda etkin olan proteinlerin etkilerini ve etkiledikleri basamakları daha iyi anlamak için hücre siklusu ve mitoz kavramlarını açıklamak yerinde olacaktır.

Hücre siklusu

Hücre siklusu hücrenin doğumundan kardeş hücrelere ayrılmasına dek olan değişimleri içine alan bir süreçtir. Işık mikroskobu ile en sık görülen hücre siklusu bulguları kromozom kondensasyonu, iğ iplikleri üzerine dizilmesi ve hücrenin ikiye ayrılmasıdır. Bu faz hücre siklusunun M fazı(=Mitoz fazı) adını almaktadır ve yaklaşık olarak 1-2 saat devam eder. Bununla birlikte, tam bir hücre siklusu erişkin dokularda bulunan hücrelerde 20-24 saate dek uzayan bir sürede gerçekleşmektedir. Bu süreç 4 basamağa ayrılabilir. Bunlar G1, S, G2 ve M fazlarıdır. G1, S ve G2 fazları kombinasyonu interfaz adını almaktadır. M fazı sonunda iki kardeş hücre ortaya çıkar ve her biri G1 fazına girer. Bu dönemde diğer hücre siklusu için gerekli olan metabolitlerin çoğu üretilir. Aynı zamanda bu dönemde hücrenin bir daha bölünüp bölünmeyeceğinin kararı alınır. Eğer bölünmeyeceklerse hücreler G0 adı verilen sessiz faza girerler. G1 süresince hücreler diğer bölünmeye girilmeyi uyaracak olan büyüme faktörlerine cevap verme aşamasındadır. Eğer cevap verilirse artık geri dönüş olmaz ve hücre bölünmeye başlar. Büyüme faktörleri aynı zamanda G0'da bulunan hücreleri de uyarak hücre siklusuna girmeye zorlar. Bununla birlikte, tümör baskılayıcı genler (=tumor suppressor genes) adı verilen proteinler hücre siklusunu G1 fazında bloke eder. Bu nedenle G1 fazı hücre bölünmesinin düzenlenmesinde çok önemli olan bir dönemdir. Onkogen adı verilen proteinler bu dönemde patolojik olarak bu düzenlenmeyi bozarak kontrolsüz hücre büyümesine neden olmaktadır. DNA replikasyonu S fazı süresince gözlenir ve bu dönem sonunda DNA içeriği 2 katına çıkar. G2 fazı süresince hücre bölünmeye hazırlanır ve çekirdek zarı parçalanması ile bu dönem sona erer. S fazı 6, G2 fazı 4 ve M fazı 2 saat gibi bir süre içinde tamamlanmasına karşın G1 süresi çok değişkendir. Örneğin bu süre embriyonik hücrelerde 2 saate kadar düşmesine karşın erişkinlerde 12 saatten daha uzun sürebilmektedir (1-3).

Hücre siklus fazları arasındaki geçişlerin düzenlenmesi moleküler seviyede yapılan araştırmalar sonucu daha iyi anlaşılabilmiştir. G1'den S fazına ve G2'den M fazına geçişlerde cyclin adı verilen protein ailesi oldukça yüksek düzeylere çıkmaktadır. Diğer birçok benzer proteinler de hücre siklusunun belirli dönemlerinde artma ve azalma gösterirler ki bu değişimler ve ilgili proteinler hücre proliferasyon markerları başlığı adı altında ileride incelenecektir.

Mitoz bölünme

S fazında DNA çoğalması sonucu diploid hücrede DNA miktarı 2 katına çıkmak suretiyle tetraploid değerlere erişilir. Bu sırada kromozomlar hala diploid sayıdadır. Mitoz bölünme süresince tüm bu değerler yarıya inerek iki kardeş hücre arasında eşit olarak paylaşılır. Bu dönemde çekirdekte meydana gelen değişiklikler 4 fazda incelenir. Bunlar profaz, metafaz, anafaz ve telofaz'dır.

Profaz: İnterfaz süresince oldukça uzayan kromatin kısalıp kalınlaşır ve tanımlanabilir bir kromozom haline dönüşür. Her biri sentromere iki kromatitle bağlı durumdadır. Çekirdek dışında sentrioller ayrılır ve zıt hücre kutuplarına göç eder. Aralarında birbirine paralel mikrotübüller sentzelenerek merkezi iğ ve astral ışınal uzantılar meydana gelir. İğ ve astral uzantılar bir arada aster adını alırlar. İğ ve iki adet aster biraraya gelerek akromatik figür veya diaster adı verilen yapıyı meydana getirir. Profaz devam ederken çekirdek kaybolur ve son olarak çekirdek zarı aniden dağılarak kromozomlar serbest kalır. Bu dağılım anı profazın sonuna ait bulgudur.

Metafaz: Çekirdek zarı kaybolduktan sonra iğ mikrotübülleri hücrenin orta kısmına doğru uzanır ve kromozomlar ekvator üzerinde dizilir. Bu dönem prometafaz adını almaktadır. Kromozomlar bu ekvatoryal plağa dizilir dizilmez hemen sentromerleri ile iğ mikrotübüllerine tutunur. Bu anda hücreye diğer kutuptan bakıldığında yıldız benzeri bir görünüm taşıdığı görülür.

Anafaz: Metafazdaki sentromer, çift bir yapıya sahiptir ve bu dönemde bölünerek yarıya indirgenir. Bu anda taşıdıkları kromatidler de yarıya indikleri için orijinal sayıda kromozom her bir hücre için oluşmuş olur. Bu kromozomlar daha sonra her iki kutuba doğru çekilirler.

Telofaz: Anafaz kromozomlarının her bir hücrede gruplanmasının sonunda her iki hücrede diploid sayıda kromozom içeriği meydana gelir. Kromozomlar tekrar uzayarak inceliyorlar ve çekirdek zarı tekrar şekillenir. Kromozomların uçlarında membranöz veziküller oluşmaya başlar ve çekirdek tekrar ortaya çıkar.

Tüm bu basamaklar sonunda mitoz bölünme tamamlanmış olup biri birine benzer iki kardeş hücre oluşmuş olur. Hücre bu dönemden sonra ya tekrar bölünmeye girmek için hazırlık yapmak üzere G1 fazına girer veya istirahat fazı olan G0 fazında kalarak hayatini devam ettirir (1-3).

Hücre siklusu ve mitoz bölünme çok iyi kontrol edilmektedir. Bu kontrolün değişik tip proteinler tarafından sağlandığı bilinmektedir. Bu proteinler günümüzde başta immunohistokimyasal metodlarla olmak üzere tespit edilebilmekte ve bu sayede normal ve anormal dokuların ayrımı ve hatta anormal dokuların tiplendirilmesi gerçekleştirilebilmektedir. Bu proteinler hücre proliferasyon marker'ları adını alırlar ve bu marker'lara karşı geliştirilen antikorlar, immunohistokimyasal metodlar kullanılmak suretiyle, patoloji laboratuvarlarında teşhis amaçlı olarak da kullanılabilirler.

Hücre Proliferasyon Marker'ları

Bu bölümde hücre proliferasyon marker'larından sadece tanı amaçlı olarak kullanılanlar değil aynı zamanda deneysel amaçlar için kullanılanlardan da söz edilecektir. Bu nedenle bu marker'ların histolojik, patolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri birarada irdelenecektir.

AP2(Transkripsiyon Faktörü) memelilerdeki gelişim sürecinde, gelişim ve morfogenezinin normal olması için gerekli bir faktördür (4). Örneğin retinanın gelişiminin erken dönemlerinde, amacrine ve horizontal hücrelerin farklılaşması için bu faktöre ihtiyaç vardır (5). Bu faktör insanda birçok meme kanser hücreleri serilerinde tespit edilmiştir. Bununla birlikte, AP2a ve g'ya benign meme epitelinde de rastlanmaktadır. Bu iki tip protein ile ILGF-1(=insulin benzeri büyüme faktörü-1) arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (4). Bu ilişkinin AP2 proteinlerinin büyüme faktör reseptörlerinin transkripsiyonunu direkt olarak düzenlemek tarzında olduğu düşünülmektedir. AP2 proteini kaybı insan melanomaları gelişiminde önemli bir bulgu olarak dikkati çekmektedir (6).

APC11 (Anafaz İlerletici Faktör) RING finger proteinleri adı verilen ROC1 ve ROC2 proteinleri ile homolog olan bu protein, spesifik olarak APC2 ile etkileşmektedir. ROC1 ve APC11 immun kompleksleri ve Cullin proteinleri potansiyel olarak çok sayıda ubiquitin ligazları oluşumunu sağlamakta ve bu sayede mitozun ilerleyişini gerçekleştirmektedir (7). Bunun yanında ROC1, ROC2 ve APC11 proteinleri mitojenler tarafından uyarılma özelliğine sahip olup bu uyarım sonucunda, konsantrasyonlarını hücre siklusu sonuna dek devam ettirme eğilimindedirler (8). APC2 spesifik olarak APC11 ve diğer APC subunitleriyle etkileşmektedir. Cullin proteinleri ile ilişki içindedir (7).

Ataxia telangiectasia, nadir görülen bir hastalık olup ATM(Ataxia Telangiectasia Mutated) geni eksikliği durumlarında ortaya çıkar ve birçok sistemi etkileyen resesif genetik bir hastalıktır. ATM yetersizliği olan vakalarda, farelerde, gametogenezinin leptonema (profaz1) fazında durduğu tespit edilmiştir (9). Bu durumda çok az miktarda hücre bir sonraki faza geçebilmektedir ve diğer hücreler apoptozisle yıkılmaktadır. Yapılan çalışmalarda ATM ile apoptoziste önemli bir gen olan p53 geni arasında önemli bir etkileşim olduğu ortaya konmuştur (10). Bu tip durumlarda, ATM antikoru, patoloji açısından mayozun monitorizasyonu amacıyla etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

BRCA-1, hücre siklusu ilerlemesinde, kalitatif ve kantitatif bakımdan sürekli değişime uğrayan bir proteindir. Örneğin S fazı süresince en yüksek düzeye ulaşan BRCA-1 konsantrasyonu G2/M fazına dek yüksekliğini devam ettirir. G1 fazı öncesinde ise düşüş görülür. BRCA-1'in genetik olarak olmamasının hem meme hem de ovarian kanser riskinde belirgin olarak artışa neden olduğu ileri sürülmektedir (11,12). BRCA-2 ise tümör supresör genleri içinde gösterilmekte olup, meme kanseri durumlarında teşhise yardımcı olmak amacıyla kullanılırlar. Heterozigot kaybı görülen vakalarda %25 oranında sporadik meme

tümörleri görüldüğü bildirilmiştir (12). Düşük de olsa, ovarian kanser riski olan vakalarda yine BRCA-2 tespiti tanıya katkı sağlayabilir. BRCA-2 yoğunluğunun hücrenin S ve G2/M fazlarında, diğer dönemlere oranlara, daha yüksek olduğu tespit edilmiştir

CBP (CREB Bağlayan Protein)'in protein kinaz tarafından CREB fosforilasyonunun cAMP ile ilgili genlerin ortaya çıkışını uyardığı tespit edilmiştir. Diğer bir hücre proliferasyon markeri olan p300 ile benzer yapıya sahiptir.

CD71(Transferrin Reseptör) hücre yüzeyi transferrin reseptörleri karsinomalarda, sarkomalarda, lösemi ve lenfomalarda çok yaygın olarak tespit edilebilmektedir (13-15). Bu reseptörlerin hem normal hem de neoplastik hücrelerde, hücre çoğalması ile ilgili olmasından dolayı, içinde meme kanserinin de bulunduğu, birçok kanserin izlenmesinde kullanılması oldukça fayda sağlayabilecektir. Bu teknikle, hastanın kliniğinin izlenmesi yanında, tedaviden alınan cevabın monitorizasyonu sağlandığı için aynı zamanda ileriye dönük tedavilere de zemin hazırlanmış olacaktır.

Cullin'ler, insan Cullin genleri olan Cul 1,2,3,4a,4b ve 5 ailesi içinde yer alırlar. Hücre siklusunun G1 fazında düzenleyici görev gören proteinlerdir. Cullin-3 memeli hücrelerinde ubiquinizasyon ve S fazı kontrolü için gerekli bir enzim olan cyclin E'yi etkilemek suretiyle hücre siklusu ilerleyişini kontrol altında tutmaktadır (16). Cullin 4a, meme karsinomlarının ortaya çıkışında ve düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada, Cullin 4a'nın DNA tamirinde önem arz eden DDB(Damaged DNA Binding) proteinleri ile benzer özellikler gösterdiği ortaya konmuştur (17).

DNA-PKcs(DNA tamir enzimleri ve Apoptozis marker'ları) DNA bağımlı protein kinazın katalitik subuniti olarak tanımlanmıştır. Farklı tiplerinin olduğu bildirilmesine karşın bu tiplerin ayrımları tam olarak yapılamamıştır. İn vivo olarak çift zincirli DNA kollarında meydana gelen hasarları tamir ettiği düşünülmektedir. DP-1 ve DP-2 (Transcription Factor) E2F ailesindeki faktörlerden bir olup, bu ailenin diğer üyeleri gibi hücre büyümesi, hücre siklusuna giriş, farklılaşma ve apoptoziste düzenleyici görev görürler. Histone-H1 hayvan ve bitki hücrelerinde çekirdekte yer alan bir proteindir. Normal ve malign hücrelerde noktamsı tarzda boyanma gösterir. Ku proteinleri hücre sinyal sistemi, çoğalma, DNA tamiri, replikasyon, transkripsiyonel aktivasyon ve apoptoziste önemli role sahip proteinlerdir.

Dystrophin Spectrin/ α aktinin ailesi içinde yer alır. Üçlü heliks çubuk şekilli proteinlerdir. İleri derecede azlığı veya yokluğu durumunda, X'e bağlı resesif bir hastalık olan, Duchenne müsküler distrofisi görülür (18,19).

Ki67 çoğalan hücrelerde görülen bir çekirdek proteindir. Esas olarak G1,S, M ve G2 fazında görülür. G0 fazında ise yoktur. Hücre proliferasyonunun morfolojik özelliklerini iyi bir şekilde gösteren protein olup, mitotik indeks ve tümör grade'lemesinde sıklıkla kullanılır. Ayrıca

meme tümörlerinde Ki67 artışı tespiti prognoz ile yakın ilişki içindedir. Örneğin Ki67 (ve PCNA) immunoreaktivitesi ile estrogen-progesteron ekspresyonu arasında çok güçlü ama zıt yönde bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (20). Diğer yandan proliferasyon oranı ile p53 geni anomalileri arasında aynı yönde güçlü bir ilişki bulunduğu ve bunun yanında meme, prostat, kolon, akciğer, karaciğer ve gastrik karsinomlarda, bazı lenfoma ve sarkomalarda olduğu gibi artmış proliferasyon olduğu ve bu vakalarda Ki67 veya PCNA kullanılmak suretiyle yapılan immünohistokimyasal yöntemlerle kolayca tanı konulabildiği ve prognoz hakkında fikir sahibi olunabildiği bilinmektedir (21,22). Thymidine işaretleme veya flow cytometry gibi değişik metodlarla, bilhassa küçük tümörlerde, proliferasyon olan hücrelerin benign veya malign olup olmadıkları birbirlerinden ayırt edilememesine karşın bu hücre proliferasyon proteinleriyle yapılan analizlerde bu ayırımı yapılabilmesi en büyük avantajlardan biri olarak kabul edilmektedir.

Mi(Microphthalmic. Melanositik ve Nonmelanositik) proteininin 2 tipi vardır. Kısa zincirli olan tipi melanositlerde görülür. Uzun zincirli tipi ise osteoklastlarda ve sadece B16 melanoma hücrelerinde bulunur. Ayrıca kalp ve mast hücrelerinde de bulunur. Pigmentasyonda, mast hücreleri ve kemik dokusu gelişimlerinde etkindir. Mutasyonlarında insanda Waardenburg Sendromu Tip II görülür (23,24). Farelerde ise deri, göz ve iç kulakta pigmentasyon kaybı görülmektedir (25). Bunun yanında osteopetroz ve NK(=Natural killer) hücreleri ile mast hücrelerinde defektler görülebilmektedir.

NuMA(Nuclear Mitotic Apparatus Protein) çekirdek içi proteinlerden olup, çekirdekte interfaz süresince tespit edilebilir. Mitoz başladığında çekirdekten iki sentrozomal yapıya doğru ve oradan da mitotik iğ kutuplarına geçer. Anafaz sonrasında protein, tekrar şekillenen çekirdekte iğlerin bulunduğu kısma döner. Kromozom dağılımının ve/veya çekirdek şekillenmesinin terminal fazı süresince mutlaka gereklidir. Son çalışmalarda apoptoziste bu proteinin 2 ayrı parçaya bölündüğü ortaya konmuştur (26). Ayrıca kolorektal kanserlerde CEA(=Carcino Embryonic Antigen)'den daha duyarlı olarak tanıya yardımcı olduğu bildirilmişse de (27) bu konuyla ilgili halen çok çelişkili yayımlar bulunmaktadır (28). Bununla birlikte, bu proteinin gastrointestinal sistemde görülen benign ve malign patolojilerde yükseldiği bir çok çalışmada ortaya konmuştur (27,28).

PCNA(Proliferation Cell Nuclear Antigen=Cyclin) cyclin olarak da bilinen bu proteinin miktarında artış çekirdekte geç G1 fazında DNA sentezi başlamadan hemen önce olur. S fazında yükseliş maksimuma ulaşır. G2 ve M fazlarında ise düşüş gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu protein de, Ki67 proteini gibi mitotik indeks belirlenmesi, tümör gradelenmesi ve hücrelerin benign veya malign ayırımının yapılmasında, oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (20-22).

PCTAIRE2 cyclin dependent kinase(=cdk) ailesi içinde yer alır. Bu proteinin kesin görevi henüz tespit edile-

memiştir. Ancak hücre siklusunun S ve G2 fazlarında pik yaptığı bilinmektedir (29). Esas olarak farklılaşmasını tamamlamış hücrelerde görülür. Özellikle beyinde ve testiste bol miktarda bulunur (30). En yoğun olarak hip-pocampus ve bulbus olfactorius'da yer alan nöronal tabakalarda bulunduğu tespit edilmesine karşın astro-sitlerde hiç bulunmamaktadır. Testiste ise spermatidler içinde bolca bulunmamaktadır. Serin/Threonin kinaz olduğu düşünülen PCTAIRE proteininin bu hücrelerde terminal dönemdeki farklılaşmada düzenleyici olarak çok etkin oldukları ortaya konmuştur (30).

RNP(RiboNucleoProtein) çekirdekdeki ribonükleoprotein partikülleri içinde oldukça bol miktarda bulunur. Doku veya içinde tümör hücrelerinin de bulunduğu (örneğin tiroid papiller karsinomu) hücre gruplarında proliferasyon olan hücrelerin tanınmasında oldukça verimli bir şekilde kullanılmaktadır (31). ROC1 ve ROC-2(RING Finger Protein) diğer bir hücre proliferasyon markeri olan APC11'in homologudur. Anafaz uyarıcı kompleksin subunitidir. Cullin'lerle etkileşim göstermektedir. S-100 proteini bu protein grubunda kabul edilmektedir. Melanomalı hastalarda metastaz indikatörü olarak kullanılmaktadır (32). CYFRA21-1, CEA ve NSE ise malign ve benign hastalıkların ayırımında %87.5 sensitivitede ve %85.5 spesifite ile kullanılmaktadır. Bu oran, küçük hücreli ve küçük hücreli olmayan karsinomlarda sırasıyla %90.6 ve %91.1 oranlarına dek yükselirken yassı hücreli karsinomda %76.8 ve adenokarsinomda %78.8 oranlarına kadar düşmektedir (33).

Rb (=Retinoblastoma Supressor Protein), Rb (=Retinoblastoma) geni ailesi üyelerindedir (34). Çekirdek fosfoproteini olup DNA'ya bağlanma yeteneğine sahiptir. G1/S,G2 ve M fazlarında yoğun olarak tespit edilebilmesine karşın erken G1 ve G0 fazlarında ortadan kaybolur. Tümör baskılayıcı genler içinde gösterilmektedir. Hücre çoğalmasını, hücre siklusunun ilerlemesini durdurmak ve hücre ölümünü uyarmak suretiyle en az iki yolla engellediği ileri sürülmektedir (35,36). Neoplastik olayın tersine işlemlerini sağlamaktadır. Eksikliklerinde tümör gelişimi olduğu tespit edilmiştir.

SMAD4/DPC4 (Tumor Supressor Protein) TGF-β (=Transforming Growth Factor-β) sinyal iletim sisteminde esansiyel mediatörlerden biridir. 7 tipi vardır ve hepsi de TGFβ sinyal sisteminde yer almaktadır. SMAD-2 ve SMAD-4 farklı olarak insanda görülen kanserlerde tümör üzerine supresor etki yapmaktadır. SMAD-4 normal kriptlerin farklılaşması ve yüzey epitel hücrelerinin apoptozisinde etkindir (57). Başta pankreatik ve kolorektal maligniteler olmak üzere, tüm kanser türlerinde histogenetik değişikliklerin esas olarak bu genin eksikliğine bağlı olduğu düşünülmektedir (37). TGF-β'1'e cevabın az olduğu meme kanseri vakalarında hem TbetaRII ve hem de SMAD-4 yapımında azalma olduğu ortaya konmuştur (58). Normal gelişim sürecinde osteoblast ve kondroblast farklılaşmasında da bu proteinler BMP(=Bone Morphogenetic Factor) ile bir etkileşim içinde bulunmaktadır. BMP'ler tarafından uyarılan osteoblast farklılaşması, esas olarak

SMAD aracılı yolağı aracılığı ile olmasına karşın, kondrojenik farklılaşma, SMAD bağımlı ve bağımsız yolağlardan geçişle sağlanmaktadır (39).

TR1/OPG/OCIF TR-1 (=Tumor Necrosis Factor reseptör benzeri protein-1) OPG (=Osteoprotogenin) veya OCIF (=Osteoclastogenesis Inhibiting Factor) adlarını da almaktadır. İsimlerinden de anlaşılacağı üzere esas olarak primer osteoblastlarda, osteojenik sarkoma hücre serilerinde, primer fibroblastlarda, lenfositlerde ve folliküler dendritik hücrelerde bulunmaktadır. Osteoklastogenezisi inhibe ederken insan fibroblastlarının çoğalmasını uyarır ve immün cevapta rol oynamaktadır (40-42).

TR2/HVEM (=Herpes Virus Entry Mediator) TNF benzeri protein-2 olarak bilinir. İnsanda bir çok dokuda ve hücre serilerinde tespit edilebilmektedir. Periferik T ve B lenfositlerde ve monositlerde nispeten yüksek oranlarda tespit edilir. Tümör nekroz faktör ailesi içinde kabul edilir. Herpes virusa karşı reseptör görevi görmektedir. Miks lenfosit aracılı çoğalmayı inhibe ettiği için T-lenfosit uyarımında etkin olduğu düşünülmektedir (43,44). TopoisomeraseII-a DNA sentezi ve transkripsiyonunda çok önemli göreve sahip bir protein olup, transforme olan veya gelişimsel olarak düzenlenme görülen hücrelerde geç S, G2 ve M fazına daha belirgin olarak tespit edilebilir. Ki67 isimli hücre proliferasyon marker'ından farkı, G1 fazında bulunmamasıdır. Tümör hücrelerinin tedavisi amacıyla kullanılan ilaçlara olan direncin tespitinde 16,45 ve akciğerde küçük hücreli karsinomada yaşam süresinin ve ilacın etkinliğinin tespitinde efektif bir şekilde kullanılmaktadır (45).

Bcl-2α (Apoptosis ve Folliküler Lenfoma Marker) onkoproteini, apoptozisi inhibe etmektedir. Yani hücrenin hayatiyetinin devamı için gereklidir. Bcl-2 nin homologu olan Bax proteininin bcl-2 ile yarışarak hücre ölümünü uyarıcı etki yaptığı ve bcl-Bax heterodimer kompleksinin hücrenin yaşaması için gerekli sinyalleri uyardığı bilinmektedir. Bcl-2 ve Bax, bir tümör baskılayıcı protein olan p53'ün hedefi durumundadırlar (47). Birçok folliküler lenfomalarda, neoplastik germinal merkezlerde yüksek oranda tespit edilebilmesine karşın normal ve hiperplastik germinal merkezlerde yoktur (47). Bcl-6 esas olarak normal germinal merkez B hücreleri ve bu hücrelerle ilgili lenfomalarda tespit edilmektedir. Non-Hodgkin lenfomalarda 3. kromozomda kromozomun yeniden yapılanmasında da belirlenebilmektedir. Bcl-6'da yeniden yapılanma diffüz büyük B hücreli lenfomaların %33-45'inde görülebilmektedir. Folliküler lenfomalarda, diffüz büyük B hücreli lenfomalarda, Burkitt lenfomalarda ve nodüler, lenfosit predominant Hodgkin hastalığında immünohistokimyasal olarak tespit edilebilmektedir (47-49).

AgNOR(Gümüş Nükleolar Organize Edici Bölge) artışı hücre proliferasyonunu gösteren bir indikatör olarak kabul edilmektedir (20). Bölünme göstermeyen hücrelerde oldukça az miktarlarda tespit edilebilir. Hücre siklusu süresince G1 fazında düşük seviyelerde olmasına karşın S-G2 döneminde oldukça yüksek düzeylerde tespit edilebilir (50). Telofaz süresince çekirdeğin reorganize olduğu

bölgede zayıf boyanma gösteren kromatinik bir bölge olarak tanımlanmıştır. Yapısında bulunan proteinlerin büyük kısmı gümüşe affinite gösterdiği için AgNOR proteinleri adını da almaktadır. Günümüzde hastalıkların teşhisi ve prognozunun takibinde kullanılmaktadır (20). Örneğin oral squamöz hücreli karsinomada AgNOR/Ki67 ve AgNOR/PCNA çift boyaması ile hastalığın teşhis ve takibi mümkün olmaktadır (51). Yine meme tümörlerinin prognozunun takibinde etkin olarak kullanılmaktadır (52).

CDC Grubu Hücre Proliferasyon Marker'ları

Normalde hücre siklusu ilerleyişi, cyclin bağımlı kinazlar tarafından yönetilmektedir. Bu kontrol sırasında cyclinler, ilerleyişi pozitif yönde etkilemelerine karşın; inhibitör subunitler tam aksine, ilerlemeyi engelleyici veya durdurucu etki yapmaktadır. İnsanda 3 tip CDC geni bulunduğu bilinmektedir. CDC25 A,B ve C adı verilen bu proteinler hücre siklusunun farklı dönemlerinde etkin olmaktadır. CDC25 A ve B tüm hücre siklusu boyunca görülmesine karşın G1 fazında CDC25A'nın, G1-S fazında ve G2 fazında CDC25B'nin pik yaptığı tespit edilmiştir. CDC25C ise esas olarak G2 fazında tespit edilebilmektedir. CDC37 memeli türlerinde bulunan bir CDC olup, D tipi cyclinler tarafından aktive edilir. G1 fazında etkindir.

Hücrenin hücre siklusuna girmesinin uyarılması, CDC47/MCM7 proteini sentezini arttırmaktadır. Bu protein hücre siklusunda DNA'nın replikasyonunu düzenler (53). İnsanda normal dokularda bulunur. Lenf nodlarının proliferasyon alanlarında, kemik iliğinde, epidermis ve mukozada çekirdek içinde tespit edilebilir. İmmünohistokimyasal analizlerde aynı hücre tipinden 3 farklı tipte kutanöz keratinositik tümör geliştiği fakat bunların farklı gradelerde olduğunun tespit edilmesi ilginç bir bulgudur. Örneğin seboreik keratoz benign bir durum olmasına karşın, Bowen hastalığı (in situ carcinoma) ve squamöz hücreli karsinomalar malign özellik taşımaktadır. Bu kliniklerin ayırımında CDC47 oldukça verimli bir şekilde kullanılmaktadır. Seboreik keratozda CDC47 pozitif olan çekirdekler, daha çok tümör lobüllerinin dış tabakalarında görülmesine karşın, diğer iki malign lezyonda tüm lezyonda görülebilmektedir. Squamöz hücreli karsinomada CDC47 pozitif olan hücre oranı %65.4 iken Bowen hastalığında %60.9 ve seboreik keratozda %12.6'dır. Normal epidermiste bu oran ise %3.9 kadar düşüktür. Yani CDC47 normal ve neoplastik hücrelerin in vivo büyümesinde önemli görevler üstlenmektedir. İmmün lokalizasyonları, kesitlerde, hücre proliferasyonu olan yeri göstermek amacıyla kullanılmaktadır.

Memelilerde büyümenin durduğu andan, proliferasyon fazına geçişe kadar olan sürede CDC transkripsiyonu başka bir hücre proliferasyon proteini olan E2F tarafından düzenlenmektedir. İstirahat halindeki hücrede CDC6 azdır. Ama G1 fazındaki çekirdeğin replikasyon yeteneği eş zamanlı olarak aşırı CDC6 aktivitesine neden olmaktadır. Hücre siklusu süresince bazı CDC6 proteinlerinin hücre çekirdek materyali ile etkileştiği ve CDC6'nın kromatine,

CDC47'nin bağlandığı noktadan farklı olan bir noktada bağlandığı tespit edilmiştir (54). Servikal smearlarda ve diğer kesitlerde CDC6'ya karşı antikolar kullanılmak suretiyle neoplastik olarak transforme olan hücreler kolayca tespit edilebilir. Bu oldukça spesifik ve hassas bir methodur. Burada dikkat edilmesi gereken nokta DNA replikasyonunu düzenleyen proteinlere karşı oluşan antikoların PAP smear testinde yüksek oranda yanlış negatif sonuç vermesidir (55).

CDC34 hücre siklusunun geç G1 fazından S fazına geçiş döneminde fonksiyonel hale gelir. Bu gen'e ait defektlerde, G1-S fazları arası geçiş olmamaktadır. Bu genin protein diziliminin, maya hücrelerindeki RAD6 genlerine benzemesi ilginçtir (56). Nitekim bu gen, içinde DNA tamirinin de bulunduğu birçok değişik hücre fonksiyonları için gereklidir. Dolayısıyla insanda da benzer görevler üstlendiği düşünülmektedir.

Cyclin Grubu Hücre Proliferasyon Marker'ları

Cyclinler "cdk (=cyclin dependent kinases)" ların düzenleyici subuniti olup hücre siklusunun değişik fazlarında, bir fazdan diğerine geçişte kontrolü sağlarlar. Cyclin'lerin geçici olarak ortaya çıkışı cdk'ların enzimatik aktivitesini kontrol ederek cyclin/cdk kompleksi oluşmasını sağlar. Bu komplekslerde, hücre siklusunda fazlar arası geçişte devamlılık için gereklidirler. Memeli somatik hücrelerinde Cyclin A S fazı ve G2 fazına geçiş için gereklidir. Cyclin D ve E G1'e geçiş kontrol ederken, Cyclin B, tüm mitozun önemli bir denetleyicisi rolünü üstlenmiştir. Mutasyonları hücrenin G2 fazında takılmasına neden olur. Renal hücre karsinomlarında ve değişik yumuşak doku tümörlerinde hastalığın tüm basamaklarında vazgeçilemez bir prognostik faktör olarak kabul edilmektedir (57,58).

Cyclin B1, G2 fazından M fazına geçişte önemli rol oynayan bir cyclindir. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, fare trofoblast giant hücrelerinin farklılaşmasında Cyclin B1 inhibisyonu ve beraberinde cyclin D1'in erken dönemde artışının etkin olduğu ortaya konmuştur (59). İnsanda cyclinC-cdk8 kompleksinin memelilerde, muhtemelen büyüme düzenleyici sinyalleri sağladığı düşünülen transkripsiyon aygıtı ile fonksiyonel bir şekilde ilişki içinde olduğu belirlenmiştir.

Cyclin D1/bcl-1(=G2 M faz Cyclin) içinde akciğer kanserlerinin de bulunduğu değişik hücre neoplazmalarında yüksek miktarlarda tespit edilebilir (60). Örneğin Mantle hücre lenfomalarının %50-70'inde bu proteinin aşırı üretimi söz konusudur. G1-S fazı geçişinde cyclin D1 miktarında artış görülür. Küçük hücreli akciğer kanserleri dışındaki akciğer kanseri hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada p53 proteini ile çok belirgin bir etkileşim içinde olduğu belirlenmiştir (61). Bu tümörlerde ve diffüz alveolar harabiyet olan durumlarda Cyclin D1'in patogeneze ve prognoz takibinde etkin bir şekilde kullanıldığı bildirilmiştir. Bu proteinin artışı prognozun kötülüğüne işaret eden önemli bir belirteçtir (62,63). Cyclin D2(G1 faz Cyclin) ise G1 fazının

devamı için gereklidir. Protoonkogenler içinde kabul edilmektedir. Cyclin D1'e benzer şekilde aktive edilmektedir. Cyclin D3(G1 faz cyclin) Cyclin D1 ve D2 ile yakından ilişkilidir.

Cyclin E'nin memeli hücre siklusunda G1/S fazları arası geçişte sınırlayıcı olarak görev yaptığı düşünülmektedir. Cyclin E'nin birçok izoformu sadece tümörlerde görülebilmekte normal dokularda tespit edilememektedir. Bu proteinin kalitatif ve kantitatif değişimleri değişik kanserlerde kötü prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir. Makrofajların terminal farklılaşmasında cyclin E seviyesinin belirgin şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir (64). Cyclin E2 komplekslerinin katalitik aktivitesi hücre siklusunu düzenleyici etki yapar. G1/S fazları geçiş sırasında seviyesi pik yapar. Cyclin E2'nin aşırı artışı G1 fazını hızlandırır. Yani bu protein G1 fazını sınırlayıcı etki yapmaktadır. İnsanlarda görülen kanserlerde Cyclin E miktarı aşırı miktarda artar. Cyclin E1 bilhassa çoğalmakta olan normal ve neoplastik transforme hücrelerde fazla miktarda bulunmasına karşın; cyclinE2 transforme olmamış hücrelerde çok az oranda tespit edilebilir. Buna karşın neoplastik hücrelerde bolca bulunmaktadır.

E2F Grubu Hücre Proliferasyon Marker'ları

E2F-1 DNA'ya bağımlı bir protein olup hücre siklusunu negatif yönde düzenleyici rol oynamaktadır. Yani tümör baskılanması, hücre siklusu ilerleyişi ve onkogeneze gibi değişik hücre olaylarında etkindirler (65). TNF uyarımlı apoptozisin hücre siklus aktivitesine önemli derecede bağımlı olduğu ve bazı durumlarda E2F'nin hücre hayatini koruyucu yönde etki yaptığı gösterilmiştir (66). Ayrıca normal gelişim sürecinde pRb/E2F-1 gen komplekslerinin lens'in gelişimi sırasında fibril hücrelerinin farklılaşması süresince hücre siklus ilerleyişini olumsuz yönde düzenlediği ve böylece farklılaşma programının tamamlanmasını sağladığı da bilinmektedir (67). E2F-2,3 ve 4'ün E2F-1'e benzer özellikler taşıdığı bilinmektedir

P Grubu Hücre Proliferasyon Marker'ları

P105(Proliferation Associated Nuclear Antigen) G0 fazında tespit edilememesine karşın G2 ve M fazlarında dramatik bir şekilde artış göstermektedir. Aktif olarak çoğalan hücrelerde ve farklı tipte yüksek gradeli malignitelerde p105 proteini miktarında artış önem taşımaktadır. Retinoblastoma gen ailesi içinde kabul edilmekte olup akciğer kanserlerinde patogeneze ve prognoz takibinde etkin bir şekilde kullanılmaktadır (34).

P107 proteini hücre çoğalmasını engelleyici görev görür. Bu genin kodlandığı kromozom bölgesi, sporadik olarak görülen Wilms tümörü ve Beckwith Weidener sendromunun köken aldığı bölge olduğu için muhtemelen bu genin yokluğuna bağlı olarak bu sendromların geliştiği ve bu nedenle bu genin tümör supresyonu yaptığına inanılmaktadır. Beckwith Weidener sendromunda; sayısız büyüme anomalileri dışında, çocukluk çağı tümörlerinde de artış dikkati çekmektedir (13,68,69).

P130/Rb2 proteini Retinoblastom ile ilişkili proteinlerden olup büyümenin kontrolünde önem taşımaktadır. Birçok akciğer kanseri türünde tespit edilebilmektedir. Akciğer kanserinin patogenezi ve progresyonunun takibinde efektif şekilde kullanılmaktadır (34). Myeloid hücre farklılaşmasında çok önemli görev üstlendikleri ve hücre farklılaşma programından çıkışta yer aldıkları ileri sürülmektedir (70). P130cas ise hücre yapışması, hücre göçü, büyüme faktörleri uyarımı, cytotokine reseptör yerleşimi ve bakteriyel enfeksiyon gibi birçok biyolojik olayda yer almaktadır. Ayrıca fizyolojik olarak kardiyovasküler sistem gelişiminde, aktin filamanlarının bir araya gelmesinde ve Src geni uyarımlı hücre transformasyonunda etkin olduğu bilinmektedir.

P14arf/p16b tümör supresyonunda görev almaktadır. p53 genine bağımlı durumlarda hücre siklusunu durdurucu etki yaptığı bilinmektedir. p14'ün bir chaperone olduğu ve β tubulinin katlanma sürecinde ve testis gibi bölgeler başta olmak üzere, değişik yerlerde yoğun β tubulin depolanmasında etkin oldukları ve bu sayede spermatogenezde çok önemli oldukları bilinmektedir (71). P15ink4b/MTS2 (Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) Cyclin bağımlı kinazları inhibe eder. Hücre siklusunun değişik basamaklarında ortaya çıkar. TGF β aracılı hücre siklusu arrestinde etkin olduğu düşünülmektedir. Birçok kanser tipinin bu genin 9. kromozomda yerleştiği yerden köken alması bu genin tümör supresyonu yaptığına dair bir delil olarak kabul edilebilir. P16ink4b/MTS1 (Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) tümör baskılayıcı proteinler içinde yer almaktadır. Değişik malignitelerin patogenezinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. p15 ve p16'nın lenfomagenesis sürecinde metilasyona uğradığı ve muhtemelen T hücreli ve B hücreli lenfomaların inaktivasyonunda veya agresif transformasyonunda etkin rol oynadıkları düşünülmektedir (72).

P18ink4c(Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) eukaryotlarda hücre bölünmesinde G1-S fazları arasındaki geçişte tespit edilmektedir. S fazına girildiği anda en yüksek değerine ulaşmaktadır. P19skp1 ile ilgili yapılan çalışmalarda hücre siklusunun hem DNA sentezi hem de mitoz fazlarında siklusun devamlılığının sağlanması için gerekli kinetokor proteininin üretildiği yer ile bu proteinin üretildiği yerin aynı yer (19. Kromozom) olması bu proteinin görevlerini ortaya koymaktadır. P19ink4d (Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) ise hücre siklusunun değişik dönemlerinde ortaya çıkmasına karşın S fazında en yüksek düzeye ulaşmaktadır. P21waf1/Cip1/Sdi1/Pic1(Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) tümör baskılayıcı proteinler içinde kabul edilmektedir ve cdk'ları spesifik olarak inhibe etmektedir. Malignitelerin patogenezinin takibinde önem arz etmektedir. P27kip1(Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) hücre siklusunu mitoz inhibisyonu yapmak suretiyle düzenlemektedir. G1 fazı ilerleyişini durdurur ve muhtemelen TGF β aracılı hücre arrestinin aracısıdır. Tümör baskılayıcı proteinler içinde kabul edilmektedir. Makrofajların çoğalmasının adozin tarafından baskılanmasında etkin rol oynadığı düşünülmektedir (73). P300/CBP G0/G1 çıkışını

uyarırken bazı transkripsiyonel elemanları baskılar ve farklılaşmayı durdurucu etki yapar. P35nck5a (Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) cdk5 geninin nöron spesifik aktivatörüdür. cdk5 ve p35 nöronal göç ve serebral korteksin laminar yerleşiminde çok önem taşımaktadır.

P57kip2(Mitotik İnhibitör/Supresor Protein) hücre çoğalmasını durdurucu etki yapmaktadır. P107 hücre proliferasyon markerı gibi Wilms tümörü ve Beckwith Weidener sendromunun gelişiminde bu genin yokluğu ve bu nedenle tümör supresyonunun yapılamamasının etkin olduğu düşünülmektedir (13,68,69).

P73 α , p53 ailesi içinde yer almaktadır. p53'ün transkripsiyonel aktivasyonunda ve DNA'ya bağlanmasında p53 genine benzer şekilde etki göstermektedir. p95vav hemopoetik hücrelerde tespit edilen bir protoonkojenidir. Hücre içindeki sinyal moleküllerinin arasında bulunan değişik yapısal motif serilerinin ortaya çıkışında ve hemopoetik hücrelerde B-lenfosit-IgM reseptör kompleksi veya T-lenfosit reseptör-CD4 kompleksi gibi yüzey reseptörlerinde görülen aktivasyonların düzenlenmesinde görev almaktadır.

CDK Grubu Hücre Proliferasyon Marker'ları

Cdk1/p34cdc2 (Cyclin Dependent Kinase) hücre bölünmesi süresince çok önemli göreve sahip olup tüm mitoz süresince oldukça aktiftir. Esas olarak çekirdekte yerleşim gösterir. Mitoz süresince çekirdek zarı yıkımı ve kromozom yoğunlaşmasında etkindir. Cdk2, cdk1'den daha erken dönemde tespit edilir. Birçok cyclin ile kompleks yapar. İnsan hücrelerinde cyclin A ile yakından ilişkilidir. Cyclin A-cdk2 birleşik aktivitesi sonucu gelişen kinaz aktivitesi sadece G2 fazında görülmesine karşın cyclin A-cdk2 kompleksi G1 fazından S fazına geçişte ve DNA replikasyonunda etkindir. Bu kompleks akciğer kanserlerinde yayılmanın yönünü ve şiddetini belirleyici olarak kullanılmaktadır (74). Cyclin E-cdk2 kinaz G1 ve S fazında aktif olup G1'den S fazına geçişte çok etkindir. Çekirdek içinde yerleşik olan cdk2 geç G1, S ve G2 fazlarında oldukça etkindir. Cdk3, Cdk4 ve Cdk6 hücre siklusu ilerlemesinde kritik bir düzenleyici görev üstlenmiş olup G1 fazından S fazına geçişte etkindirler. Başta cdk1 olmak üzere cdk2 ve cdk6'nın insanda kolon kanserini biyokimyasal olarak en iyi gösteren parametreler olduğu ve farmakolojik tedavi yönünü belirlediği bilinmektedir (75).

Cdk5/PSSALRE birçok memeli dokusunda ve hücre siklusu sürecinde normal dönemde tespit edilebilmektedir. Nöron ve kas hücrelerinde bulunur. Nöron ve kas hücrelerinin terminal farklılaşmasında etkindir (76). Cdk5 ve CyclinE TM3 Leydig hücre serisi ve TM4 Sertoli hücre serilerinde çekirdek ve sitoplazmada dağınık bir şekilde tespit edilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda TM3 Leydig hücre serilerindeki cdk5'in hücre siklusu düzenlenmesinde rol oynadığı, bununla birlikte, TM4 Sertoli hücrelerindeki cdk5'in hücre proliferasyon kontrolü yanında hücreye destek görevi gördüğü anlaşılmıştır (77). Bunların dışında

inclusion body myositis adı verilen bir klinik tabloda diğer cdkların tersine sadece cdk5'in aşırı artış göstermesi tanı koydurucu bir bulgu olarak kabul edilmektedir (78).

Cdk8 hücre siklusu ilerlemesinde kritik düzenleyiciler içinde yer alır. G1'den S fazına geçişte etkindir. Cyclin C ile etkileşmek suretiyle kinazları aktive eder ve RNA polimerazla bu kompleks etkileşime girerek hücre bölünmesinin uyarın transkripsiyon mekanizması devreye girer.

KAYNAKLAR

- Ross MH, Romrell LJ and Kaye GI. Histology A Text and Atlas, Third Edition, Williams and Wilkins International Edition, 1995.
- Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE et al. Gray's Anatomy Ed. by LH Bannister and M Dyson, Thirty-Eighth Edition, New York: Churchill Livingstone Inc, 1995.
- McGee JOD, Isaacson PG, and Wright NA. Oxford Textbook of Pathology. Oxford University Press, 1992.
- Turner BC, Zhang J, Gumbs AA, Maher MG, Kaplan L, Carter D, Glazer PM, Hurst HC, Haffty BG, Williams T. Expression of AP-2 transcription factors in human breast cancer correlates with the regulation of multiple growth factor signalling pathways. *Cancer Res* 1998; 58(23):5466-72.
- Bisgrove DA, Godbout R. Differential expression of AP-2alpha and AP-2beta in the developing chick retina: repression of R-FABP promoter activity by AP-2. *Dev Dyn* 1999; 214(3):195-206.
- Luca MR, Bar-Eli M. Molecular changes in human melanoma metastasis. *Histol Histopathol* 1998; 13(4):1225-31.
- Ohta T, Michel JJ, Schottelius AJ, Xiong Y. ROC1, a homolog of APC11, represents a family of cullin partners with an associated ubiquitin ligase activity. *Mol Cell* 1999; 3(4):535-41.
- Ohta T, Michel JJ, Xiong Y. Association with cullin partners protects ROC proteins from proteasome-dependent degradation. *Oncogene* 1999; 18(48):6758-66.
- Barlow C, Liyanage M, Moens PB, Tarsounas M, Nagashima K, Brown K, Rottinghaus S, Jackson SP, Tagle D, Ried T, Wynshaw-Boris A. Atm deficiency results in severe meiotic disruption as early as leptotema of prophase I. *Development* 1998; 125(20):4007-17.
- de Toledo SM, Azzam EI, Keng P, Laffrenier S, Little JB. Regulation by ionizing radiation of CDC2, cyclin A, cyclin B, thymidine kinase, topoisomerase IIalpha, and RAD51 expression in normal human diploid fibroblasts is dependent on p53/p21Waf1. *Cell Growth Differ* 1998; 9(11):887-96.
- Lee WY, Jin YT, Chang TW, Lin PW, Su IJ. Immunolocalization of BRCA1 protein in normal breast tissue and sporadic invasive ductal carcinomas: a correlation with other biological parameters. *Histopathology* 1999; 34(2):106-12.
- Silva JM, Gonzalez R, Provencio M, Dominguez G, Garcia JM, Gallego I, Palacios J, Espana P, Bonilla F. Loss of heterozygosity in BRCA1 and BRCA2 markers and high-grade malignancy in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 53(1):9-17.
- Bhuiyan ZA, Yatsuki H, Sasaguri T, Joh K, Soejima H, Zhu X, Hatada I, Morisaki H, Morisaki T, Mukai T. Functional analysis of the p57KIP2 gene mutation in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Hum Genet* 1999; 104(3):205-10.
- Kube D, Vockerodt M, Weber O, Hell K, Wolf J, Haier B, Grasser FA, Muller-Lantzsch N, Kieff E, Diehl V, Tesch H. Expression of epstein-barr virus nuclear antigen 1 is associated with enhanced expression of CD25 in the Hodgkin cell line L428. *J Virol* 1999; 73(2):1630-6.
- Van Leeuwen-Stok EA, Jonkhoff AR, Visser-Platier AW, Drager LM, Teule GJ, Huijgens PC, Schuurhuis GJ. Cell cycle dependency of 67gallium uptake and cytotoxicity in human cell lines of hematological malignancies. *Leuk Lymphoma* 1998; 31(5-6):533-44.
- Singer JD, Gurian-West M, Clurman B, Roberts JM. Cullin-3 targets cyclin E for ubiquitination and controls S phase in mammalian cells. *Genes Dev* 1999; 13(18):2375-87.
- Shiyonov P, Nag A, Raychaudhuri P. Cullin 4A associates with the UV-damaged DNA-binding protein DDB. *J Biol Chem* 1999; 274(50):35309-12.
- Bia BL, Cassidy PJ, Young ME, Rafael JA, Leighton B, Davies KE, Radda GK, Clarke K. Decreased myocardial nNOS, increased iNOS and abnormal ECGs in mouse models of Duchenne muscular dystrophy. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31(10):1857-62.
- Ozawa E, Hagiwara Y, Yoshida M. Creatine kinase, cell membrane and Duchenne muscular dystrophy. *Mol Cell Biochem* 1999; 190(1-2):143-51.
- Rosai J. Ackerman's Surgical Pathology. Eighth Edition. Mosby Publishing., 1996.
- Inadomi T, Tan M, Suzuki H, Shigematsu C. Immunohistochemical evaluation of the probability of skin metastasis in gastric cancer. *Eur J Dermatol* 1999; 9(3):214-7.
- Niewiadomska H, Mirowski M, Stempien M, Olborski B, Blonski JZ, Hanausek M, Wierzbicki R. A 65 kDa oncofetal protein (p65), proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki67 expression in breast cancer patients. *Neoplasma* 1998; 45(4):216-22.
- Lalwani AK, Attaie A, Randolph FT, Deshmukh D, Wang C, Mhatre A, Wilcox E. Point mutation in the MITF gene causing Waardenburg syndrome type II in a three-generation Indian family. *Am J Med Genet* 1998; 80(4):406-9.
- Price ER, Horstmann MA, Wells AG, Weilbaecher KN, Takemoto CM, Landis MW, Fisher DE. alpha-Melanocyte-stimulating hormone signaling regulates expression of microphthalmia, a gene deficient in Waardenburg syndrome. *J Biol Chem* 1998; 273(49):33042-7.
- Yajima I, Sato S, Kimura T, Yasumoto K, Shibahara S, Goding CR, Yamamoto H. An L1 element intronic insertion in the black-eyed white (Mitf[mi-bw]) gene: the loss of a single Mitf isoform responsible for the pigmentary defect and inner ear deafness. *Hum Mol Genet* 1999; 8(8):1431-41.
- Martelli AM, Bortul R, Fackelmayer FO, Tazzari PL, Bareggi R, Narducci P, Zwyer M. Biochemical and morphological characterization of the nuclear matrix from apoptotic HL-60 cells. *J Cell Biochem* 1999; 72(1):35-46.
- Briggman J, Genduso R, Camara C, Healy B, Shapiro K, Roos R, Merrifield S, Lifter J, Wu YJ, Elder E, Talamonti M. NuMA: evaluation of a new biomarker for the detection of low stage colorectal cancer. *Anticancer Res* 1999; 19(4A):2411-4.
- Hasholzner U, Stieber P, Zimmermann A, Burges A, Hofmann K, Schmitt UM, Schmeller N, Schalhorn A. Nuclear mitotic apparatus protein (NuMA) in benign and malignant diseases. *Anticancer Res* 1999; 19(4A):2415-20.
- Charrasse S, Carena I, Hagmann J, Woods-Cook K, Ferrari S. Characterization, subcellular distribution, and cell cycle-dependent kinase activity. *Cell Growth Differ* 1999; 10(9):611-20.
- Beset V, Rhee K, Wolgemuth DJ. The cellular distribution and kinase activity of the Cdk family member Pctaire1 in the adult mouse brain and testis suggest functions in differentiation. *Cell Growth Differ* 1999; 10(3):173-81.
- Echeverria OM, Hernandez-Pando R, Vazquez-Nin GH. Ultrastructural, cytochemical, and immunocytochemical study of nuclei and cytoskeleton of thyroid papillary carcinoma cells. *Ultrastruct Pathol* 1998; 22(3):185-97.

- 32.Kaskel P, Berking C, Sander S, Volkenandt M, Peter RU, Krahn G. S-100 protein in peripheral blood: a marker for melanoma metastases: a prospective 2-center study of 570 patients with melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1999; 41(6):962-9.
- 33.Keller T, Bitterlich N, Hilfenhaus S, Bigl H, Loser T, Leonhardt P. Tumour markers in the diagnosis of bronchial carcinoma: new options using fuzzy logic-based tumour marker profiles. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998; 124(10):565-74.
- 34.Baldi A, Esposito V, De Luca A, Howard CM, Mazzarella G, Baldi F, Caputi M, Giordano A. Differential expression of the retinoblastoma gene family members pRb/p105, p107, and pRb2/p130 in lung cancer. *Clin Cancer Res* 1996; 2(7):1239-45.
- 35.Dooztzadeh-Cizeron J, Evans R, Yin S, Goodrich DW. Apoptosis induced by the nuclear death domain protein p84N5 is inhibited by association with Rb protein. *Mol Biol Cell* 1999; 10(10):3251-61.
- 36.Knudsen KE, Weber E, Arden KC, Cavenee WK, Feramisco JR, Knudsen ES. The retinoblastoma tumor suppressor inhibits cellular proliferation through two distinct mechanisms: inhibition of cell cycle progression and induction of cell death. *Oncogene* 1999; 18(37):5239-45.
- 37.Korchynskiy O, Landstrom M, Stoika R, Funa K, Heldin CH, ten Dijke P, Souchelnyskiy S. Expression of Smad proteins in human colorectal cancer. *Int J Cancer* 1999; 82(2):197-202.
- 38.Pouliot F, Labrie C. Expression profile of agonistic Smads in human breast cancer cells: absence of regulation by estrogens. *Int J Cancer* 1999; 81(1):98-103.
- 39.Fujii M, Takeda K, Imamura T, Aoki H, Sampath TK, Enomoto S, Kawabata M, Kato M, Ichijo H, Miyazono K. Roles of bone morphogenetic protein type I receptors and Smad proteins in osteoblast and chondroblast differentiation. *Mol Biol Cell* 1999; 10(11):3801-13.
- 40.Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999; 140(10):4382-9.
- 41.Shalhoub V, Faust J, Boyle WJ, Dunstan CR, Kelley M, Kaufman S, Scully S, Van G, Lacey DL. Osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand effects on osteoclast formation from human peripheral blood mononuclear cell precursors. *J Cell Biochem* 1999; 72(2):251-61.
- 42.Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Goto M, Mochizuki SI, Tsuda E, Morinaga T, Udagawa N, Takahashi N, Suda T, Higashio K. A novel molecular mechanism modulating osteoclast differentiation and function. *Bone* 1999; 25(1):109-13.
- 43.Rajcani J, Vojvodova A. The role of herpes simplex virus glycoproteins in the virus replication cycle. *Acta Virol* 1998; 42(2):103-18.
- 44.Yu KY, Kwon B, Ni J, Zhai Y, Ebner R, Kwon BS. A newly identified member of tumor necrosis factor receptor superfamily (TR6) suppresses LIGHT-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 1999; 274(20):13733-6.
- 45.Dingemans AM, Witlox MA, Stallaert RA, van der Valk P, Postmus PE, Giaccone G. Expression of DNA topoisomerase IIalpha and topoisomerase IIbeta genes predicts survival and response to chemotherapy in patients with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 1999; 5(8):2048-58.
- 46.Nakamura Y, Saito K, Furusawa S. Analysis of internal deletions within the BCL6 gene in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol* 1999; 105(1):274-7.
- 47.Basu A, Haldar S. The relationship between Bcl2, Bax and p53: consequences for cell cycle progression and cell death. *Mol Hum Reprod* 1998; 4(12):1099-109.
- 48.Kramer MH, Hermans J, Wijburg E, Philippo K, Geelen E, van Krieken JH, de Jong D, Maartense E, Schuurin E, Kluin PM. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 1998; 92(9):3152-62.
- 49.Ree HJ, Kadin ME, Kikuchi M, Ko YH, Suzumiya J, Go JH. Bcl-6 expression in reactive follicular hyperplasia, follicular lymphoma, and angioimmunoblastic T-cell lymphoma with hyperplastic germinal centers: heterogeneity of intrafollicular T-cells and their altered distribution in the pathogenesis of angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Hum Pathol* 1999; 30(4):403-11.
- 50.Sirri V, Roussel P, Hernandez-Verdun D. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle. *Micron* 2000; 31(2):121-6.
- 51.Costa A de L, de Araujo NS, Pinto D dos S Jr, de Araujo VC. PCNA/AgNOR and Ki-67/AgNOR double staining in oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1999; 28(10):438-41.
- 52.Ceccarelli C, Trere D, Santini D, Taffurelli M, Chieco P, Derenzini M. AgNORs in breast tumours. *Micron* 2000; 31(2):143-9.
- 53.You Z, Komamura Y, Ishimi Y. Biochemical analysis of the intrinsic Mcm4-Mcm6-mcm7 DNA helicase activity. *Mol Cell Biol* 1999; 19(12):8003-15.
- 54.Fujita M, Yamada C, Goto H, Yokoyama N, Kuzushima K, Inagaki M, Tsurumi T. Cell cycle regulation of human CDC6 protein. Intracellular localization, interaction with the human mcm complex, and CDC2 kinase-mediated hyperphosphorylation. *J Biol Chem* 1999; 274(36):25927-32.
- 55.Williams GH, Romanowski P, Morris L, Madine M, Mills AD, Stoeber K, Marr J, Laskey RA, Coleman N. Improved cervical smear assessment using antibodies against proteins that regulate DNA replication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(25):14932-7.
- 56.Pati D, Meistrich ML, Plon SE. Human Cdc34 and Rad6B ubiquitin-conjugating enzymes target repressors of cyclic AMP-induced transcription for proteolysis. *Mol Cell Biol* 1999; 19(7):5001-13.
- 57.Aaltomaa S, Lipponen P, Ala-Opas M, Eskelinen M, Syrjanen K, Kosma VM. Expression of cyclins A and D and p21(waf1/cip1) proteins in renal cell cancer and their relation to clinicopathological variables and patient survival. *Br J Cancer* 1999; 80(12):2001-7.
- 58.Huhtanen RL, Blomqvist CP, Bohling TO, Wiklund TA, Tukiainen EJ, Virolainen M, Tribukait B, Andersson LC. Expression of cyclin A in soft tissue sarcomas correlates with tumor aggressiveness. *Cancer Res* 1999; 59(12):2885-90.
- 59.Palazon LS, Davies TJ, Gardner RL. Translational inhibition of cyclin B1 and appearance of cyclin D1 very early in the differentiation of mouse trophoblast giant cells. *Mol Hum Reprod* 1998; 4(11):1013-20.
- 60.Caputi M, Groeger AM, Esposito V, Dean C, De Luca A, Pacilio C, Muller MR, Giordano GG, Baldi F, Wolner E, Giordano A. Prognostic role of cyclin D1 in lung cancer. Relationship to proliferating cell nuclear antigen. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20(4):746-50.
- 61.Mishina T, Dosaka-Akita H, Kinoshita I, Hommura F, Morikawa T, Katoh H, Kawakami Y. Cyclin D1 expression in non-small-cell lung cancers: its association with altered p53 expression, cell proliferation and clinical outcome. *Br J Cancer* 1999; 80(8):1289-95.
- 62.Adamson A, Perkins S, Brambilla E, Tripp S, Holden J, Travis W, Guinee D Jr. Proliferation, C-myc, and cyclin D1 expression in diffuse alveolar damage: potential roles in pathogenesis and implications for prognosis. *Hum Pathol* 1999; 30(9):1050-7.
- 63.Keum JS, Kong G, Yang SC, Shin DH, Park SS, Lee JH, Lee JD. Cyclin D1 overexpression is an indicator of poor prognosis in resectable non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 1999; 81(1):127-32.
- 64.Liu Q, VanHoy RW, Zhou JH, Dantzer R, Freund GG, Kelley KW. Elevated cyclin E levels, inactive retinoblastoma protein, and sup-

- pression of the p27(KIP1) inhibitor characterize early development of promyeloid cells into macrophages. *Mol Cell Biol* 1999; 19(9):6229-39.
65. Dimri GP, Itahana K, Acosta M, Campisi J. Regulation of a senescence checkpoint response by the E2F1 transcription factor and p14(ARF) tumor suppressor. *Mol Cell Biol* 2000; 20(1):273-85.
66. Spyridopoulos I, Principe N, Krasinski KL, Xu Sh, Kearney M, Magner M, Isner JM, Losordo DW. Restoration of E2F expression rescues vascular endothelial cells from tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis. *Circulation* 1998; 98(25):2883-90.
67. McCaffrey J, Yamasaki L, Dyson NJ, Harlow E, Griep AE. Disruption of retinoblastoma protein family function by human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein inhibits lens development in part through E2F-1. *Mol Cell Biol* 1999; 19(9):6458-68.
68. Green DM, Breslow NE, Beckwith JB, Finklestein JZ, Grundy P, Thomas PR, Kim T, Shochat S, Haase G, Ritchey M, Kelalis P, D'Angio GJ. Effect of duration of treatment on treatment outcome and cost of treatment for Wilms' tumor: a report from the National Wilms' Tumor Study Group. *J Clin Oncol* 1998; 16(12):3744-51.
69. Caspary T, Cleary MA, Perlman EJ, Zhang P, Elledge SJ, Tilghman SM. Oppositely imprinted genes p57(Kip2) and igf2 interact in a mouse model for Beckwith-Wiedemann syndrome. *Genes Dev* 1999; 13(23):3115-24.
70. Mori A, Higashi H, Hoshikawa Y, Imamura M, Asaka M, Hatakeyama M. Granulocytic differentiation of myeloid progenitor cells by p130, the retinoblastoma tumor suppressor homologue. *Oncogene* 1999; 18(46):6209-21.
71. Fanarraga ML, P'arraga M, Aloria K, del Mazo J, Avila J, Zabala JC. Regulated expression of p14 (cofactor A) during spermatogenesis. *Cell Motil Cytoskeleton* 1999; 43(3):243-54.
72. Baur AS, Shaw P, Burri N, Delacretaz F, Bosman FT, Chaubert P. Frequent methylation silencing of p15(INK4b) (MTS2) and p16(INK4a) (MTS1) in B-cell and T-cell lymphomas. *Blood* 1999; 94(5):1773-81.
73. Xaus J, Valledor AF, Cardo M, Marques L, Beleta J, Palacios JM, Celada A. Adenosine inhibits macrophage colony-stimulating factor-dependent proliferation of macrophages through the induction of p27kip-1 expression. *J Immunol* 1999; 163(8):4140-9.
74. Shoji M, Dobashi Y, Morinaga S, Jiang SX, Kameya T. Tumor extension and cell proliferation in adenocarcinomas of the lung. *Am J Pathol* 1999; 154(3):909-18.
75. Salh B, Bergman D, Marotta A, Pelech SL. Differential cyclin-dependent kinase expression and activation in human colon cancer. *Anticancer Res* 1999; 19(1B):741-8.
76. Patrick GN, Zukerberg L, Nikolic M, de la Monte S, Dikkes P, Tsai LH. Conversion of p35 to p25 deregulates Cdk5 activity and promotes neurodegeneration. *Nature* 1999; 402(6762):615-22.
77. Musa FR, Tokuda M, Kuwata Y, Ogawa T, Tomizawa K, Konishi R, Takenaka I, Hatase O. Expression of cyclin-dependent kinase 5 and associated cyclins in Leydig and Sertoli cells of the testis. *J Androl* 1998; 19(6):657-66.
78. Nakano S, Akiguchi I, Nakamura S, Sato H, Kawashima S, Kimura J. Aberrant expression of cyclin-dependent kinase 5 in inclusion body myositis. *Neurology* 1999; 53(8):1671-6.