

ANTİKANSER MOLEKÜLÜ

P 53

Büyük bir gizlilik içinde yürütülen kanser araştırmalarında, bir kod adı bütün uzmanların tatlı hayallere dalmasına yol açmaktadır: P 53. Bu doğal protein, hücrelerin çoğalmasını durdurmaktadır. Kanserlerin yarısından çoğunda, bu proteinin eksikliği söz konusudur. P 53 tedavide çığır açacağı benzetilmektedir.

Philippe Chambon

ABD'de Baltimore'da John Hopkins Üniversitesi'nden Bert Vogelstein şöyle diyor: "Çeşitli kanserlerin ortak bir yanını arayıp dururken bu moleküle rastladık; bu nedenle herkesin bu molekülün üzerine atılmasına şaşmamak gerek." Araştırmacıların bu konuda seferber oluşu şaşırtıcıydı: 1983 yılında P 53 üzerindeki ilk bilimsel toplantıya 30 kişi katılmışken, Ekim 1992'de İsrail'de yapılan son toplantıya 200'den fazla uzman geldi.

Fransız Ulusal Bilimsel Araştırma Merkezi (CNRS) Moleküler Onkoloji (kanseri bilimi) Bölümü yöneticisi Pierre May, P 53'e ilk kez el attığında, çalışmalarının ne kadar büyük sonuçlar doğuracağından habersizdi. O sıralar, kültürü yapılmış hücrelerin "ölümsüzleştirilmesi" üzerinde çalışıyordu. Biyolojistlerin iyi bildiği bu teknik, hücrenin hiç durmadan bölünmesini sağlamaktan ibarettir. Bu şekilde bir hücre kültüründeki hücreler, kendilerinden beklenen en yüksek bölünme sayısını aşarlar ve içinde bulundukları kültür ortamı, onlara besin sağlamaya devam ettiği sürece çoğalmaya devam ederler. Böylece araştırmacılar büyük miktarlarda klonlar elde ederek, onları istedikleri kadar gözlemleyebilir ve etkileyebilir (ikiye bölünen her hücre, bir kendi benzerini oluşturur. Bu iki özdeş hücre de kendi benzerlerini oluşturur ve bu böyle devam ederek tek bir hücreden oluşmuş özdeş hücreler kolonisi meydana gelir, buna klon denir. Hücre sonsuza dek ikiye bölünmeyi sürdüreceğe hale gelmişse, "ölümsüz" sıfatını kazanır. Kanser hücreleri bu anlamda ölümsüzdür). Bu gün hücre kültürlerini ölümsüzleştirmekte en çok kullanılan yöntem, hücre kültürüne bir maymun virüsü olan simian virüs 40 (SV 40) eklemektir. Bu virüsle enfekte olan kültür hücreleri sonsuza dek çoğalırlar. Hücreleri ölümsüzleştirmekle uğraşan Pierre May ekibi, SV 40 ile yakından ilgili hücresel bir molekül elde etti ve buna P 53 adını verdi (P = protein, 53 = molekül ağırlığı 53 dalton) (1 dalton = oksijen atomunun 1/16'sına karşılık olan kütle). Bu keşif 1979'da yapılmıştı.

Ölümsüzleştirilmiş hücrelerde P 53'ün bulunması karşısında biyolojistler ilgisiz kalamazdı; çünkü kanser hücreleri de "ölümsüz" cinsden olup sınırsız bir şekilde çoğalıyordu; bu bir kanser hücresinin temel kusuruydu. İşte bu nedenle birçok ekip, tümörlerde P 53 aramaya başladı. Buldular da. P 53'ün yapılmasını sağlayan gen bir kanser geni olmalıydı. Kanser yapıcı genlere **onkogen** denmektedir (Grekçe onkos = tümör). Onkogenler üzerindeki araştırmalar bugün de bütün hızıyla sürmektedir. Bu genler, normal durumda iken hücrelerin farklılaşmasına ve embriyonun gelişmesine katkıda bulunurlar. Bir diğer deyişle bu genler sayesinde ki, bir organizmayı oluşturan hücreler, ait oldukları dokulara uygun bir şekilde farklılaşırlar. Daha sonraki hayatta onkogenler, hücrede diğer bazı görevleri yerine getirirler. Ancak hücredeki normal görevlerini yerine getiremedikleri zamandır ki, onkogen (kanseri yapıcı gen) adına hak kazanırlar. Gerçek şudur ki, bir mutasyon veya bir diğer değişim bu genlerden birinin görevini değiştirir ve kanser riski doğar.

Bilim adamları P 53'ün yeni bir onkogen olduğuna inanmaktayken, üç yıl sonra Kanada'nın Toronto şehrinde S. Benchimol adlı bir araştırmacı garip bir olayla karşılaştı. Eritrolösemi (alyuvar lösemisi) denen deneysel fare lösemisi üzerinde çalışmakta olan Benchimol, lösemi ilerledikçe P 53 proteininin kaybolduğunu gözlemledi. Eğer P 53 bir onkogen olsaydı, bunun aksi beklenirdi: Kanser ilerledikçe P 53 geninin ürünü olan protein artmalıydı. S. Benchimol'un deneyleri zihinlere kuşku tohumları ekti: P 53 bir onkogen değilse neydi? O zaman birden gerçek anlaşıldı: P 53 bir anti-onkogen'di! Kanserleri önlemek, tümörleri geriletme görevli bir gendi P 53. Bu nedenledir ki, P 53 proteini kanserin başlangıcında beliriyor, umutsuzca habis olayı durdurmaya çalışıyor ve kansere yenilince de kayboluyordu. Tıpta iki üç diğer anti-onkogen tanınıyordu; fakat P 53 onlara yalnız yüzeysel bir benzerlik gösteriyordu. Diğerlerinden farklı olarak P 53'ün birbirine karşıt iki rolü vardı. Doğal veya "vahşi" şekliyle bir antionko-



Normalde P 53 proteini hücre çekirdeği içinde bulunur. P 53 geni mutasyona uğrarsa P 53 proteini, hücre çoğalmasını durdurucu etkisini kaybeder ve bu resimde görüldüğü gibi çekirdek dışında bulunabilir. P 53'ün varlığı immünoflüoresan teknikle, yani P 53'e karşı flüoresan antikorlar oluşturarak belirlenmiştir.

gendi; fakat rastlantı sonucu bir mutasyona uğrarsa, onkogen oluyordu. İşte kanıt: Normal hücrelerden P 53 genini çıkarırsanız hiçbir şey olmaz; en azından kısa vadede hiçbir şey olmayacağı söylenebilir; şimdi hücre içine mutasyona uğramış bir P 53 geni koyunuz; hücreler hızla çoğalmaya başlayacaklardır (kansерleşmişlerdir).

P 53'ün, normal halde iken, tümörlerin büyümesini durduğu da çok geçmeden anlaşıldı. 1990'da Bert Vogelstein normal P 53 genini kanserli hücrelere içine sokmayı başardı; P 53 geni P 53 proteini yaptırmaya başlayınca hücrelerin anarşik bir şekilde çoğalması durdu. Bugün P 53'ün kanserli hücrelerin çoğalmasını durduruşu, yalnızca in vitro

olarak (vücut dışında, laboratuarda) gerçekleştirilebiliyor. Fakat bu şekilde, kanserin genlerle tedavisi yolu açılmış oluyor. Bu teknik henüz kanserli hastalarda kullanılabilecek kadar geliştirilmiş değil, bilinmeyen bazı tehlikeler taşıyor olabilir, P 53'ün görevleri de tam belli değil.

Bugün bu konuda dört varsayım ileri sürülüyor. İlkine göre, P 53 hücre çoğalmasını durdurucu bir proteindir. Hücre devirlerini kontrol eden cyclin'lerle benzetilebilir. İkinci varsayıma göre, P 53 hücrede farklılaşmayı sağlayan proteindir; farklılaşma sayesinde bir pankreas hücresi bir böbrek veya dalak hücresine benzemez. Bir organizmanın bütün hücreleri özdeş DNA molekülleri içermesine rağmen, embriyonun gelişmesi sırasında, her doku için belli bazı genler çalışıp diğerleri inaktifleşerek, o dokuya özgü hücreler oluşur. Bu farklılaşma (diferansiyasyon) olayı sayesinde ki, alyuvarlar hemoglobini denem kırmızı boyayı sentez edebilirler; alyuvarlar kanserleşince hemoglobini sentez etme özelliklerini kaybederler. Farklılaşmanın kaybı, kanserin bir diğer özelliğidir. Eritrolösemili alyuvarlara normal P 53 eklenince, 1. varsayıma uygun olarak alyuvarların hızla çoğalması durur. 2. varsayıma uygun olarak da alyuvarlar yeniden farklılaşarak hemoglobini yapmaya başlarlar; bir diğer deyişle hastalıktan önceki hallerine geri dönerler. Böylece harika bir ilaç mı bulmuş olduk? Ne yazık ki, her şey bu kadar basit olmamaktadır.

Eğer P 53 bir farklılaşma geniye, ondan yok-sun bir embriyo asla olgun hale gelemez. Bu gerçek, diğer farklılaşma genleri ve diğer anti-onkogenlerle de saptanmıştır. Bu konuda emin olmak için genetik operasyon uzmanları, önce farelerde P 53 genini çalışmaz hale getirdiler ve sonra bu farelerin yavru yapmasını sağladılar. Hayret ki hayret: Nor-



Siçan embriyonu akciğer hücrelerinde P 53 mutasyonu oluşturulduktan sonra, hücrelerin hızla çoğalmaya başladığı görülür. Muhtemelen kanser hücrelerinin hızla çoğalmaya başlaması, P 53'ün inaktif oluşuyla ilgilidir. Mutasyon elde etmek için hücreler, tütünün kanserojen maddesi olan benzo-a-pyren ile temas ettirildi.

mal bir gebelikten sonra normal yavrular doğdu. Acaba hangi gen, P 53'ün görevini üstüne almıştı, bu bir sırdı. Fakat P 53 eksikliği etkisini göstermekte gecikmedi: Bu şekilde doğan bütün fare yavruları kanser oldular. İlk kanserler yavrular 4 haftalıkken gözükmeye başladı ve yavruların hiçbirisi 10 aydan fazla yaşamadı!

Demek ki P 53, farklılaşmada bir rol oynamakta ise de bu rol hayati değildir. Böylece üçüncü bir hipotez doğmuştur; buna göre P 53 "genom bekçisi"dir. Bu görüş Nature dergisinin son sayılarından birinde İngiliz bilim adamı David Lane tarafından ileri sürülmüştür. P 53 bir çeşit "molekül polisi" dir; bir hücrenin genomu bozulunca onu normal hale getirir. Birçok gözlem bunu doğruladı. Bunlardan biri de, yine John Hopkins Üniversitesi'nden M.B. Kastan tarafından gerçekleştirilendir: Mutasyon yapıcı gamma ışınlarına maruz bırakılan hücrelerde derhal P 53 artmaktadır; bu sırada hücrelerin bölünmeleri durmuştur. Ancak bir 10 saat kadar sonradır ki, P 53 miktarı azalır. David Lane bu deneyi, kolunu gönüllü olarak bir UV lambası altına koyan bir arkadaşında in vivo (canlı üzerinde) olarak tekrarladı. Deriden alınan parçalar bir önceki deneyle aynı sonucu verdi. Bir şey çok açık olarak belli oluyordu: DNA'nın genom'u taşıyan molekül-bütünlüğü tehlikeye girer girmez P 53 geni aktive olmakta ve hücre çekirdeğinde çok fazla miktarda P 53 proteini yapılmaktadır. Daha sonra P 53, DNA'nın belli bir bölgesine yapışarak derhal hücre bölünmesini durdurur, DNA kendine bir benzer yapamaz, böylece ışının DNA'da yaptığı tahribat DNA kopyasına geçmemiş olur.



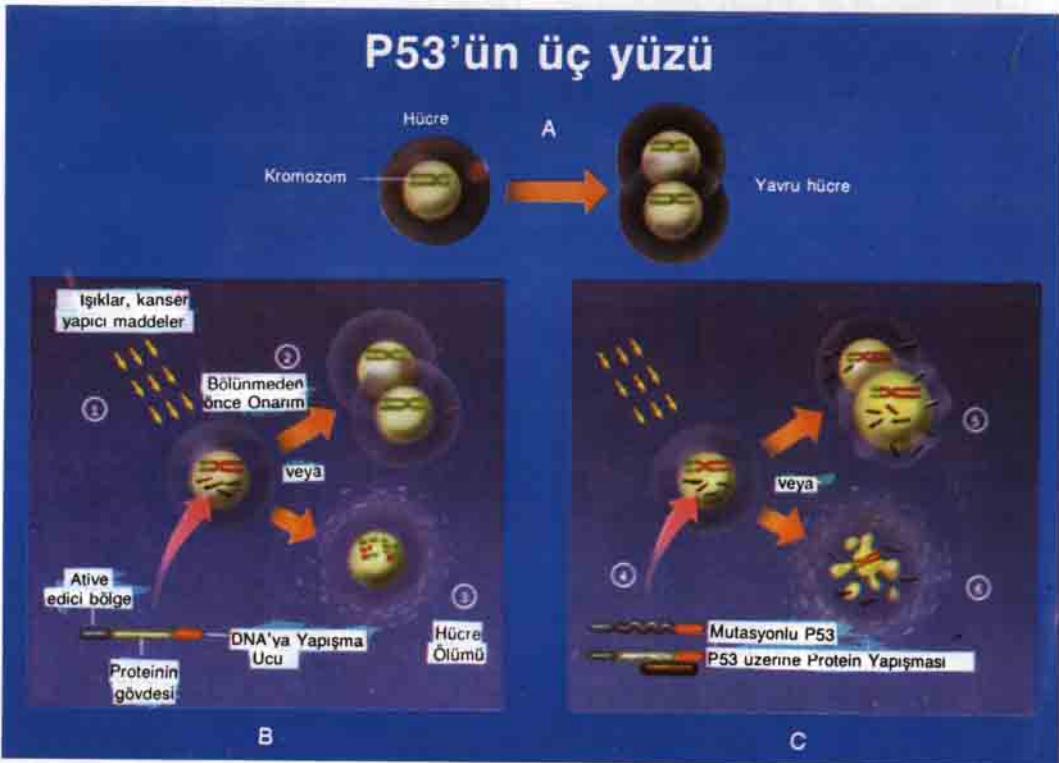
CNRS Moleküler Onkoloji Bölümü araştırma direktörü Pierre May, aynı enstitünün Araştırma müdürleri'nden eşi Evelynna Pierre May ve ekibi, laboratuarda ölümsüzleştirilmiş hücrelerde P 53'ün varlığını gösterdiler. İngiliz ve Amerikalı araştırmacılar eşzaman olarak aynı sonuçlara vardılar. Bunlar 1979'daydı.

Bölünmenin durması, hücreye DNA onarımı için gereken zamanı kazandırmıştır. DNA onarıldıktan sonra P 53 yapımı durur ve hücre yeniden bölünmeye başlar. Bu olay, embriyonda P 53 eksikliğinin neden erkenden tümör oluşturmadığını açıklar. Bu kanserler, ilerde DNA üzerinde yeteri sayıda değişme olunca meydana çıkacaktır.

Lyon'daki Leon-Berard merkezinden Mehmet Öztürk, P 53 için 4. bir hipotez ileri sürmüştür: P 53'ün yaşlılıktaki rolü (çerçeve içi yazıya bkz). Bu karaciğer kanserleri uzmanına göre, P 53'ün genom bekçiliği rolü, yaşlılığın düzenlenmesi olayına benzerdir. Bir hücre kültüründe kendiliğinden ölümsüzleşmiş hücrelerde P 53 yoktur veya inaktif haldedir. Hücre kültüründeki diğer hücreler, kendi ritimlerini izleyerek ölürler. Bir hücre ne kadar çok bölünme yapmışsa, DNA'sı o oranda hasar görmüş-

tür. DNA yeteri kadar yıpranınca P 53 işe karışarak hücre bölünmelerini durdurur, bu ise yaşlılık demektir. Yalnız P 53 geni mutasyona uğramış hücreler ölümsüzleşebilir.

Aslında bu hipotezlerin hiçbiri tek başına yeterli değildir ve araştırmacılar P 53'ün asıl görevini bulamadıklarından, P 53'ün çok görevli (mültifonksiyonel) olduğunu söylemektedirler. Etkilerinin geniş bir alana yayılması, onun tümörlerin çoğunda rol oynamasını açıklar. P 53 geninin mutasyonları, noktasal bile olsa, P 53 proteininin DNA'ya yapışmasını ve hücre bölünmesini düzenlemesini engeller. P 53 geninin değişimleri, Li-Fraumani sendromunda olduğu gibi kalıtsal da olabilir; bu nadir hastalığa tutularlarda çok küçük yaşlardan itibaren çok çeşitli kanserler görülür. Kanser hücrelerinde P 53'ün iki şekli bulunur: normal ve mutasyona uğramış. Nor-



A) Normal bir insan hücresi bölündüğü zaman, çekirdekdeki 23 çift kromozomda bulunan DNA, P 53 geni aktive olmadan kendi kopyasını yapar. B) DNA ışıklardan (UV, gamma vb.) veya mutagen maddelerden gelen bir saldırıya (1) maruz kalınca, hücre P 53 genini aktive ederek P 53 proteini oluşturur. P 53 proteini DNA'nın replikasyonunu (kendi benzerini yapmasını) ve bu şekilde hücre bölünmesini durdurur; Böylece hücreye hasarları onarması için zaman kazandırır. Eğer hasar çok büyükse, P 53 apoptoz(3) yaptırır; yani DNA'nın küçük parçalara bölünmesiyle hücre ölür. c) P 53 geni mutasyona uğrarsa veya P 53 proteini viral veya kanser genlerinin ürünleri olan proteinlerce etkisizleştirilirse, hücrede P 53 etkisi görülemez(4). Bu durumda DNA'daki hasar gelecek kuşaklara geçer, kromozom anormalliklerinin nedeni bu olabilir(5). Aynı olay hücrenin kanserleşmesine veya ölümüne yol açabilir(6). Bugün bilinmektedir ki, P 53, kanserlerin çoğunda, örneğin kalın bağırsak kanserlerinin %75'inde ve küçük hücreli akciğer kanserlerinin %100'ünde rol oynamaktadır.

P 53'ün Kanserin Habercisi Olduğunu Bulan Bir Türk MEHMET ÖZTÜRK

Yakın zamanlara kadar, kanser yapıcı (kanserojen) maddelerin etkisi, ancak hayvan deneyleri, hücre kültürleri veya epidemiyolojik çalışmalarla anlaşılabilirdi. P 53 sayesinde artık kanser yapıcı maddelerin gerçekten kansere yol açtığı kanıtlanabiliyor. Bunu bulan kişi, Fransa'da Lyon'da Leon-Berard Merkezinde araştırmalar yapan Mehmet Öztürk, dünyada yılda 1 milyondan fazla ölüme yol açan karaciğer kanseri üzerinde uzmanlaşmıştır. Asya ve Afrika'da en sık görülen bu hastalığın başlıca iki nedeni vardır: Hepalit B (sarılık) virüsü ve yer fıstığı gibi besinlerin küflenmesinden oluşan aflatoksin B1 maddesinin ağız yoluyla vücuda girmesi.

Mehmet ÖZTÜRK, bu kanserde P 53'ün rolünü arıyordu. ABD'de ünlü Massachusetts General Hospital'da (Boston) araştırma yaparken, çeşitli ülkelerden gelen tümörleri karşılaştırdı. Bazı hastalar hem virüs hem aflatoksin'le, bazıları yalnız virüsle karşılaşmıştı. Arkadaşlarıyla beraber aflatoksin'in DNA'ya bağlandığını ve P53 proteinini yaptıran gende mutasyona yol açtığını buldu. Daha açıkçası aflatoksin, P 53 genindeki bir guanin'i

timin'e çevirmektedir; bu, genin görevini tamamen bozmaya yeterlidir. Böylece bilimde ilk kez kanser yapıcı bir maddenin moleküllere etkisi kanıtlanmış oluyordu. Derhal diğer araştırmacılar bu çalışmalara benzer çalışmalara başladılar ve UV ışınlarının, tütündeki benzopyren'in vb. mutasyonlara yol açtığını gösterdiler.

Bazı meme kanserlerinde %20-25 olguda, P 53 analizi ile aflatoksin'in yaptığı mutasyona benzer bir mutasyon görülmektedir. Acaba burada da kanserojen bir madde mi kanseri başlatıyor? Araştırmalar sürüyor.

P 53 bugün kanser riskini ortaya koyabiliyor. Mehmet Öztürk'ün keşfinden sonra yeni bir kanseroloji dalı doğmuştur: kanserin genetik epidemiyolojisi. Bu alandaki ilk çalışmalardan biri, Lyon'daki Enternasyonal Kanser Araştırmaları Merkezi'nin yardımıyla Gambiya'da yapılıyor. Aflatoksin'in besinde bol bulunduğu bir bölgede hepatit B (sarılık) aşısının etkisi incelenecek. P 53'ün mutasyonları sayesinde karaciğer kanserine hepatit B virüsünün mü, küflerin mi yol açtığı anlaşılabilir.

mal P 53, mutasyonlu P 53'ün etkilerini dengeleyebilir. Fakat mutasyonlu P 53, normal P 53 üstüne yapışarak onun görevlerini engellemektedir.

İlginçtir ki, birçok kanserde fazla miktarda P 53 olmasına rağmen, bu P 53 bütün etkisini kaybetmiş durumdadır; hem de P 53 geni normal olduğu halde son aylarda anlaşılmıştır ki, normal P 53, başka genlerce yaptırılan çeşitli proteinlerce etkisizleştirilmektedir. Örneğin bazı sarkomlarda özellikle Kaposi

sarkomunda - MDM2 adlı protein çok fazla miktarda yapılarak P53'e bağlanır ve onun etkisini önler. Bazı virüs proteinleri, örneğin dölyatağı boynu (cervix) kanserlerinde rol oynayan siyil (papillom) virüsüne ait E6 proteini de MDM2 gibi davranır.

Bugün birçok ekip, P53 geni mutasyonlarının hücre yüzeyinden anlaşılıp anlaşılamayacağını inceliyor. Eğer bu başarılsa, hazırlanacak bir aşı ile bu hücreleri yok etmek mümkün olacak.

Darid Lane, P 53'ün görevlerinin daha iyi tanınması sayesinde, kanser tedavisinde ışın ve ilaç kullanılmasının daha etkili olabileceğini düşünüyor. Toksik olmayan ilaçlarla normal hücrelerdeki P 53 artırılabilirse, bu hücreler tümör hücrelerini öldürücü yüksek dozda ışın ve ilaçlardan korunabilirler.

Bilim bir yandan P 53 etkisini taklit edici veya artırıcı ilaçlar ararken ve P 53 genini kanser tedavisinde kullanmayı düşlerken, bir yandan da kısa bir süre sonra hastalarda P 53 analizi yaparak bazı kanserlerin geleceğini belirlemeyi ve onların büyümesini önlemeyi umuyor.

Science et Avenir, Ocak 1993'ten çev.:
Doç.Dr. Selçuk ALSAN

Villejuif'deki Pierre May Bölümü'nde araştırmacı Fatma Şakrani, üst yutak (nasofarenks) kanserinin epidemiyolojisini araştırmaktadır. Bu kanser, Akdeniz kıyılarında sıkırt. Muhtemelen nitrosamine içeren balık veya et yenmesi, P 53 geninin mutasyonuna neden olmaktadır. Birçok kanser yapıcı madde, bu genin mutasyonuna yol açar.

