



Neoplastik Hastalıkların Moleküler Patolojik Mekanizmaları

Molecular Pathologic Mechanisms of Neoplastic Diseases

Burçin PEHLİVANOĞLU ^{ID}, Anıl AYSAI ^{ID}, Sümeyye EKMEKÇİ ^{ID}, Yasemin ŞAHİN ^{ID},
Muhammed Hasan TOPER ^{ID}, Betül GÜNDOĞDU ^{ID}, İbrahim Halil ERDOĞDU ^{ID}, Canan KELTEN TALU ^{ID}

Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Patoloji Anabilim Dalı, İZMİR

ÖZET

Çok basamaklı karsinogenez teorisine göre başlangıç evresinde ortaya çıkan geri dönüşsüz genetik değişiklikler zaman içerisinde çevresel faktörlerin de etkisiyle hücrenin klonal proliferasyonuna yol açmakta ve sonuç olarak invazyon ve metastaz gibi malignite bulguları gelişmektedir. Tüm kanserlerin hücresel düzeyde büyüme sinyallerinde kendine yeterlik, büyümeyi baskılayıcı sinyallere duyarsızlık, hücre ölümünden kaçış, sınırsız çoğalma yeteneği, anjiyogenez, doku invazyonu/metastaz, enerji metabolizmasının yeniden düzenlenmesi, tümör çevresi inflamasyon/tümör mikroçevresi, immün yanıtın kaçış ve genomik instabilite ve mutasyon olmak üzere birtakım ortak özellikler taşıdıkları öne sürülmüştür. Bu derlemede, kanserin temel özellikleri üzerine odaklanılarak neoplastik hastalıkların moleküler mekanizmaları incelenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Karsinogenez, Kanser belirteçleri, Neoplazi, Moleküler değişiklikler

ABSTRACT

Multistep carcinogenesis is characterized by the occurrence of multiple cellular changes due to numerous genetic and non-genetic cellular changes resulting in clonal expansion and other features of malignancy such as invasion and/or metastasis. All cancers are considered to bear several characteristics that are also known as "hallmarks of cancer": self-sufficiency in proliferative signaling, insensitivity to growth suppressors, evasion of cell death, limitless replicative capacity, sustained/induced angiogenesis, invasion and metastasis capability, reprogrammed energy metabolism, evasion of immune response, constitution of a specific tumor microenvironment, genomic instability and mutation. In this review, mechanisms of carcinogenesis have been discussed focusing on basic and emerging hallmarks of cancer.

Key Words: Carcinogenesis, Hallmarks of cancer, Neoplasia, Molecular alterations

KISALTMALAR

2- HG: 2-hidroksiglutarat	HNPCC: Herediter nonpolipozis koli (Lynch Sendromu)	PD-1: "Programmed death-1"
APC: Adenomatöz polipozis koli	IDH: İzositrat dehidrogenaz	PDGF: Platelet kaynaklı büyüme faktörü
AT: Ataksi-telenjiektazi	IGF: İnsülin benzeri büyüme faktörü	PD-L1: "Programmed death-1" ligandı
ATM: Ataksi telenjiektazi mutasyonlu	KP: Kseroderma pigmentosum	PMN: Premetastatik niş
CDK: Siklin bağımlı kinaz	lncRNA: Uzun kodlanmayan RNA	RB: Retinoblastom
CTLA-4: Sitotoksik T-lenfosit-ilişkili protein-4	MAPK: Mitogen-activated protein kinases	RSK: Receptör serin kinaz
EGF: Epidermal büyüme faktörü	MHC: Major doku uygunluk kompleksi	RTK: Receptör tirozin kinaz
ESM: Ekstrasellüler matriks	miRNA: Mikro RNA	PI3K: Fosfoinozidit-3 kinaz
EMT: Epitelyal mezenkimal transizyon	MMP: Matriks metalloproteinazlar	TGF-β: Transforme edici büyüme faktörü-β
FADD: Fas-ilişkili ölüm domaini	MMR: Yanlış eşleşme tamiri	TILs: Tümörü infiltre eden lenfositler
FAP: Familyal adenomatöz polipozis	MSI: Mikrosatellit instabilitesi	TNF: Tümör nekroze edici faktör
FGF: Fibroblast büyüme faktörü	mTORC1: "The mammalian target of rapamycin complex 1"	TSP-1: Trombospondin-1
HIF1-α: Hipoksi ile indüklenen faktör 1-α		VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

GİRİŞ

Tarıçha Hera Herakles ile savaşında Hydra'nın yardımına gönderdiği, Herakles tarafından öldürülen, sadakati ve fedakarlığı nedeniyle daha sonra 12 yıldızdan birine dönüştürdüğü yengecin isminin ("*Carcinus*"; *eski Yunanca (karkinos)*) Hipokrat tarafından bir tümörün kesit yüzündeki damarlar yengece benzetildiği için kanser hastalığına verilmiş olmasından memnun olur muydu bilinmez; ancak kanser, hiç kuşkusuz, günümüzdeki en korkutucu hastalıklar ve en önemli ölüm nedenleri arasındadır.

Tarihte en erken kanser tanısı M.Ö. 1600 ve M.Ö. 1500 yıllarında sırasıyla kemik tümörleri ve meme kanseri için Eski Mısır'da yapılmıştır (1, 2). Vücudun herhangi bir yerinde hücrelerin kontrolsüz çoğalmasıyla karakterize olan kanserin gelişimi üzerine tarih boyunca pek çok teori geliştirilmiş ve karsinogenezin iki basamaklı bir süreç olduğu teorisi ilk kez 1949'da inisiasyon-promosyon teorisi şeklinde Berenblum ve Shubik tarafından ileri sürülmüştür (3). Armitage ve Doll (4) 1954'te bu teoriyi bir adım ileriye götürerek tek bir hücrenin belirli sayıda kalıtsal değişikliklere maruz kaldıktan sonra malign bir tümör oluşturabileceğini göstermişler, "çok basamaklı karsinogenez" teorisini geliştirmişlerdir. Çok basamaklı karsinogenez teorisi takip eden yıllarda diğer araştırmacılar tarafından da test edilerek daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır (5, 6). Genetik ve çevresel pek çok faktörün karsinogenez mekanizmalarıyla ilişkili olabileceği ve kansere neden olan mutasyonların büyümeyi uyarıcı genler (onkogenler), tümör baskılayıcı genler, apoptozu düzenleyen genler ve DNA onarım genleri olmak üzere başlıca dört ana gen grubunu hedef aldığı bilinmektedir. Kanser yol açan genetik değişikliklerin bir kısmı, onkogen oluşumuna neden olan "işlev kazandırıcı" mutasyonlardır. Diğer bir kısmı ise normal koşullarda hücrelerin uygunsuz şekilde çoğalmasını ve kendi normal bölgelerinin dışında hayatta kalmalarını engelleyen tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonudur (7). Kanser hücrelerinin seçici büyüme avantajı kazanmasında doğrudan ya da dolaylı etkisi olan mutasyonlara "driver" (sürücü ya da güdücü) mutasyon, herhangi bir etkisi olmayan mutasyonlara ise "passenger" (yolcu) mutasyon denmektedir. Driver gen mutasyonları içeren genler "Mut-driver" gen, mutasyon olmadan, büyüme avantajına sebep olacak şekilde aşırı miktarda eksprese olan genler ise "Epi-driver" gen olarak adlandırılmaktadır. Tümörler binlerce passenger mutasyon içerebilirken, tipik olarak sadece 2-8 kadar driver mutasyon kansere sebep olur. Driver mutasyonlar nokta mutasyonları, delesyon, inversiyon ya da amplifikasyonlar şeklinde görülebilmektedir. Bugüne kadar onkogen ve tümör baskılayıcı genlerden oluşan yaklaşık 140 kadar Mut-driver gen tanımlanmıştır. Bilinen driver genler, hücre sağ kalımı, hücre akıbeti ve genom korunması olmak üzere ana 3 hücresel süreçte rol oynayan, temel bazı sinyal yolları üzerinden etki göstermektedir (8).

Hanahan ve Weinberg (9), 2000 yılında yayınladıkları derlemede tüm kanserlerin hücresel düzeyde 8 temel özelliği taşıdığını öne sürmüşler, 2003 yılında İnsan Genom Projesi'nin tamamlanmasını takiben genetik alanındaki hızlı ilerleme sonucu ortaya çıkarılan bilgilerden yararlanarak 2011 yılında bu 8 temel özelliğe 2 belirteç daha eklemiştir (10). Bu derlemede, kanserin temel özellikleri ele alınarak neoplastik hastalıkların moleküler mekanizmaları irdelenmektedir. Bunun için önce karsinogenezde rol oynayan önemli sinyal iletim yolları tanımlanacak, ardından kanserin temel özelliklerine değinilecektir (Tablo I).

Karsinogenezde Rol Oynayan Önemli Sinyal İletim Yolları

Sinyal iletim yolları normal hücrelerin çoğalmasını, farklılaşmasını, yaşamını ve işlevini düzenleyen sistemlerdir (10). Sinyal iletiminde meydana gelen değişimler hücrenin çoğalma ve/veya yaşama işlevlerinin kontrolünü ortadan kaldırır (9). Genetik veya epigenetik değişikliklerle aktive veya inaktive olan kanser ile ilişkili bir yolak, kanserin gelişimi için gerekli olan hücresel düzenlenmenin ortaya çıkmasına neden olur (11). Onkogenik sinyal iletimi tümör gelişimi ile invazyon/metastaz sürecinde etkin rol oynamaktadır (9). Kanserde değişikliğe uğrayan Ras, PI3K, STAT, MAPK, TGF- β , Notch, Hedgehog, APC, hücre siklusu/apoptozis, kromatin modifikasyonu, transkripsiyonel modifikasyon ve DNA hasarı kontrolü sinyal yolları olmak üzere temel birtakım sinyal yolları tanımlanmıştır (8).

Kanser Genom Atlası projesinde çalışılan 33 kanser tipinde hücre siklusu yolağı, Hippo, Myc, Notch, Nrf2, PI3K/Akt, RTK-Ras, TGF- β , p53 ve β -katenin-Wnt yolları olmak üzere 10 sinyal yolağının öne çıktığı bildirilmiştir. Tümörlerin %89'unda bu yollarla en az bir "driver" değişikliğin meydana geldiği, %30'unda ise bu yollarla çoklu değişiklikler ortaya

Tablo I: Kanser temelli özellikleri.

Büyüme Sinyallerinde Kendine Yeterlilik
Büyümeyi Baskılayıcıların Kaybı/ Duyarsızlık
Hücre Ölümüne Direnç
Apoptozdan Kaçış Yeteneğinin Kazanılması
Otofaji
Nekroz
Sınırsız Replikasyon Yeteneği
Anjiyogenez ve Anjiyogenezin Sürdürülmesi
İnvazyon ve Metastaz Yeteneği
Enerji Metabolizmasının Yeniden Düzenlenmesi
Tümör Çevresi İnflamasyon/Tümör Mikroçevresi
İmmün Yanıttan Kaçış
Genetik İnstabilite ve Mutasyon

çıkacağı saptanmıştır (12). En sık değişikliğe uğrayan yolağın RTK-Ras yolağı olduğu dikkati çekmektedir. Bu yolda en sık değişikliğe uğrayan gen KRAS iken, bunu sırasıyla BRAF ve EGFR izlemektedir. p53, hücre siklusu, Ras ve PI3K yollarında aynı anda bulunmayan ve birbirini dışlayan değişiklik çiftlerinin sık olduğu saptanmıştır. Bu nedenle bu yolların işlevlerinin değişmesinde tek değişikliğin yeterli olduğu sonucuna varılmıştır. Öte yandan Hippo, RTK ve Wnt yollarında ise aynı anda çok sayıda değişikliğin ortaya çıktığının belirlenmesi bu yollarda sinerjistik aktivasyon olduğu görüşünü ortaya koymuştur. En güçlü birliktelik PI3K ve Nrf2 yollarında saptanmıştır (12).

Temel olarak bu yollar; hücre proliferasyonu, sağ kalımı, metabolizması, polarite, migrasyon ve ayrışmasını, genomik instabilite, tümör mikroçevresi gibi kanserin temel özellikleri ile paralellik gösteren süreçler üzerine etkilidir. RTK-Ras yolağı ve PI3K-Akt yolları; hücre çoğalması, hücre büyümesi, hücre sağ kalımı, hücre metabolik değişiklikler, hücre göçü ve polaritesi ile ilişkilidir (7). Fosfoinozitol-3 kinaz (PI3K) sinyal yolağı, özellikle glukoz transportu ve kullanımı gibi hücre metabolizmasının kontrolünde, hücre büyümesinin regülasyonu, protein biyosentezi ve apoptozu önlemede görev alan bir yoldur (13). "Mitogen-activated protein kinases" süper ailesi üyesi MAP kinazlar; gen ekspresyonu, hücre bölünmesi, hücre canlılığı, apoptoz, metabolizma, farklılaşma ve motilite ile ilişkili süreçlerin

kontrolündeki sinyal iletimi yollarını oluştururlar (14). Myc yolağı; hücre büyümesi, çoğalması ve apoptoz üzerine etki gösterir. Nrf2 yolağı oksidatif stres yanıtı ile ilişkiliyken, TGF- β yolağı ise hücre çoğalması ve kök/progenitor hücre fenotipi kazanılması ile ilişkilidir. p53 yolağı bilindiği gibi hücre sağ kalımı, çoğalması, yaşlanması ve apoptoz üzerine etkilidir. Wnt yolağı hücre proliferasyonu, Hippo yolağı hücre çoğalması ve ayrışmasını, Notch yolağı da hücre büyümesi ve apoptoz süreçleri ile ilişkilidir (12). Burada bahsedilen karsinogenezde etkili belli başlı sinyal yolları Tablo II'de özetlenmiştir.

Kanserin Belirteçleri

1. Büyüme Sinyallerinde Kendine Yeterlilik

Fizyolojik koşullarda hücreyi bölünmeye yönlendiren süreç birçok aşamadan oluşur ve bunu düzenleyen yollar büyüme faktörleri ve besinlere sınırlı ulaşılabilirlik, kontakt inhibisyon ve hücre içi/hücreler arası geri bildirim mekanizmaları ile sıkı denetim altındadır. Aşırı hücre çoğalması çoğu kanserin ortak özelliğidir. Büyüme sinyalleri normal hücrede proto-onkogenler tarafından kontrol edilmektedir. Proto-onkogenlerin ekspresyonu mutasyonlar ve/veya dolaylı etkilerle arttığında hücrede kanser gelişimine katkıda bulunabilirler ve bu durumda onkogen olarak adlandırılırlar ve onkoproteinleri kodlarlar. Normal hücreler proliferatif faza geçebilmek için büyüme sinyallerine gereksinim duymaktadır;

Tablo II: Karsinogenezde rol oynayan önemli sinyal yolları*.

Sinyal yolağı	Sinyal yolağının görev aldığı önemli hücreyel olaylar	Temsil eden başlıca genler
RTK/RAS	Hücre proliferasyonu, hücre büyümesi, hücre sağ kalımı, hücre metabolik değişiklikler, hücre migrasyonu ve polaritesi	RTK'ler, RAS, BRAF, KIT, MET, RET, MAP2K1, NF1, EGFR, ALK
PI3K	Hücre proliferasyonu, hücre büyümesi, hücre sağ kalımı, hücre metabolik değişiklikler, hücre migrasyonu ve polaritesi	PIK3CA, PTEN, RET, AKT'ler, KIT, MTOR, EGFR, ALK, MET
STAT	Hücre sağ kalımı	JAK1/2/3, SOCS1, MPL, CRLF2
TGF- β	Hücre proliferasyonu, kök/progenitor hücre fenotipi kazanılması, apoptozis, diferansiasyon	SMAD'lar, TGFBR1/2, ACVR2A/B, FOXL2, GATA1/2
NOTCH	Hücre-hücre iletişimi, hücre büyümesi ve apoptozis	NOTCHx, JAGx, EP300, CREBBP, GATA1/2
Hedgehog	Hücre proliferasyonu ve diferansiasyonu	PTCH1, SMO, SPOP
APC	Hücre sağ kalımı, hücre diferansiasyonu	APC, SOX9, NF2, HNF1A, FAM123B, CTNBN1, AXIN1
Hücre siklusu	Mitotik hücre siklus progresyonunun düzenlenmesi	CDKN2A/B, CCND'ler, CDK'ler
HIPPO	Hücre proliferasyonu ve diferansiasyonu	LATS1/2, YAP1, TAZ (WWTR1)
MYC	Hücre büyümesi, proliferasyonu ve apoptozis	MYC, MAX, MGA
NRF2	Oksidatif stres yanıtı, kanser kemorezistansı	NFE2L2, KEAP1, CUL3
TP53	Hücre sağ kalımı, proliferasyonu, DNA tamiri, hücre yaşlanması ve apoptozis	TP53, CDKN2A, ATM, MDM2/4
WNT	Hücre proliferasyonu, doku homeostazisi	APC, CTNBN1, FZD'ler, RNF43

*Bu tablo 8 ve 12 numaralı kaynaklardan modifiye edilmiştir.

bununla birlikte, tümör hücreleri onkogen aktivasyonu sonucu herhangi bir dış uyarıya gerek duymadan çoğalma kapasitesine sahiptir. Onkogenler kodladıkları onkoproteinlerin işlevine göre 5 gruba ayrılabilir:

- Büyüme faktörleri,
- Büyüme faktörü reseptörleri,
- Tirozin kinaz aktivitesi olan sinyal mediatörleri,
- Nükleotid bağlama aktivitesi gösteren sinyal mediatörleri,
- Nükleer transkripsiyon faktörleri (15).

Çoğu büyüme faktörü komşu hücreye etki eder (parakrin etki) ancak bazı tümör hücreleri kendi sentezledikleri büyüme faktörüne de yanıt verebilirler (otokrin etki) (16). Örneğin; glioblastomlarda hem trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF; "platelet-derived growth factor") hem de PDGF tirozin kinaz reseptörü (PDGFR) ekspresyon edilir. Otokrin aksın aktive olduğu tümörlerde büyüme faktörü genelde mutant değildir; diğer onkoproteinlerin etkisiyle aşırı ekspresyon ve büyüme faktörlerinin artmış sentezi söz konusudur (17).

Onkogenlerin büyük kısmı büyüme faktörü reseptörü kodlar ve bunlar arasında en önemlisi transmembranöz bir protein olan tirozin kinaz reseptördür. Normal hücrede spesifik bir büyüme faktörü tirozin kinaz reseptörünün dış kısmına bağlandığında reseptör geçici olarak aktive olarak hücre içi sinyal ileti yollarını aktive eder. Tümör hücresinde ise tirozin kinaz reseptörü mutasyonu (örn. akciğer adenokarsinomunda *ERBB1* mutasyonu) (18), gen yeniden düzenlenimi (örn. akciğer adenokarsinomunda *EML4-ALK* füzyonu) (19) ya da amplifikasyonu (örn. meme kanserinde *HER2* amplifikasyonu) (20) gibi mekanizmaların sonucunda sürekli olarak aktive haldedir; böylece hücreye sürekli olarak mitojenik sinyaller gönderir.

Tirozin kinaz reseptörü aktive olduğunda hücre içi başlıca sinyal ileti yolları olan Ras, MAPK ve PI3K/Akt yollarını aktive eder. İnsanlarda gelişen tümörlerin yaklaşık %25'inde RAS mutasyonu sonucu tümör hücrelerinde mitojenik sinyal artışı mevcuttur (21) ancak bu oran bazı kanserlerde daha yüksek olup pankreas adenokarsinomu ve kolanjiyokarsinom gibi bazı tümörlerde %90 oranında RAS nokta mutasyonu görülmektedir (17). BRAF bir diğer önemli tirozin kinazdır ve melanomlar başta olmak üzere çeşitli kanser tiplerinde BRAF mutasyonu görüldüğü bilinmektedir. Tirozin kinaz reseptörü ilişkili diğer bir hücre içi sinyal ileti yolağı olan PI3K yolağı, pek çok kanserde aktive olarak büyüme ve çoğalmayı uyarmaktadır.

Membran yerleşimli olmayan tirozin kinazların mutasyonları da malignite gelişiminde rol oynayabilir. Kronik myeloid lösemide ve akut lenfoblastik lösemide, ABL geni normal yerleşim yeri olan 9. kromozomdan 22. kromozoma göç eder ve burada BCR geni ile birleşir. Oluşan kimerik gen, onkogenik ve sürekli aktive halde olan BCR-ABL tirozin kinazı

kodlar. Bazı malignitelerde nonreseptör tirozin kinazlarda mutasyonlar görülür. Kronik myeloproliferatif hastalıklarda görülen JAK2 mutasyonu JAK/STAT aktivasyonuna neden olarak STAT transkripsiyon faktörlerini bağlayan hedef genlerin ekspresyonunu değiştirerek hücre çoğalmasına neden olur (17).

Tümör hücreleri çoğalma otonomisine nükleusta sentezlenen MYC, MYB, FOS gibi transkripsiyon faktörlerinin uyarılması sonucunda da ulaşabilir. Neoplastik lezyonlarda en sık rol oynayan transkripsiyon faktörü Myc'tir. MYC gen ailesinin C-MYC, L-MYC ve N-MYC olmak üzere üç üyesi bulunmaktadır. Hücre döngüsü denetimi, metabolizma, sinyal iletimi, çoğalma ve ayrılaşması gibi süreçlerde rol oynayan MYC geninin ekspresyonu ve protein düzeyleri normal hücrede sıkı kontrol altındadır ve Ras/MAPK yolağı aktivasyonu ile uyarılır. Myc transkripsiyon faktörleri aynı zamanda hücre programlanması, kendini yenileme ve pluripotent fazın devam ettirilmesinde de rol oynamaktadır. Diaz-Diaz ve ark. (22) MYC düzeylerinin pluripotensi ile korelasyon gösterdiğini, MYC ekspresyonu yüksek ("MYC-high") naif hücreler ile diferansiye olmaya başlamış MYC ekspresyonu düşük ("MYC-low") hücreler arasındaki kompetitif mekanizma ile MYC-low hücrelerin elimine edildiğini ve embriyonel dönemde farklılaşma için doğru zaman gelinceye dek pluripotent hücre havuzunun korunduğunu saptamışlardır. MYC baskılandığında hücrede biyosentetik uyku hali ve çoğalmanın duraklatılması gelişmektedir (23). Öngörülebileceği üzere, MYC'in sürekli aşırı ekspresyonu durumundan kontrolsüz hücre çoğalması ortaya çıkabilmektedir. MYC'in artmış ekspresyonu meme, kolon, pankreas, gastrik ve uterin kanserler başta olmak üzere pek çok kanserde görülmektedir (24). MYC aşırı ekspresyonu ile ilişkisi en yaygın bilinen tümörlerden biri nöroblastomdur ve günümüzde prognoz için risk gruplamasında kullanılan faktörlerden biri haline gelmiştir. N-MYC'in primer nöral krest hücrelerinde nöroblastom gelişimini indüklediği gösterilmiştir (25). Neoplastik hastalıklarda MYC aşırı ekspresyonu için en sık kullanılan diğer bir örnek Burkitt lenfomada görülen C-MYC aşırı ekspresyonudur. Burkitt lenfomada, kromozom 8 ve 14 arasındaki translokasyon [t(8;14)] sonucu C-MYC immüno globulin promotör bölgesine transloke olarak aşırı ekspresyon olmaya başlar. Ayrıca; Ras/MAPK, Notch, Wnt, Hedgehog gibi MYC protein ekspresyon artışını uyaran sinyal ileti yollarında onkogenik bir mutasyon olan tümörlerde de MYC amplifikasyonu görülebilmektedir (17).

Öte yandan; büyüme sinyallerinde otonomi kazanmanın yanı sıra tümör içerisindeki farklı hücre tipleri arasındaki heterojen sinyalleşmenin de neoplastik hücre proliferasyonuna neden olabileceği ve büyüme sinyallerinin aslında tümör stromasındaki hücrelerden geliyor olabileceği de öne sürülmektedir (9). Tümör parankimindeki hücrelerin stromal hücrelere büyüme sinyalleri göndererek stromal hücrelerden büyüme yanıtları aldıkları düşünülmektedir (26, 27).

Tümör hücresinde sürekli olarak büyüme sinyalleri oluşturulabilmesinde önemli bir diğer mekanizma negatif geribildirim kaybıdır (10). Örneğin, RAS genini etkileyen mutasyonlar, normal hücrede intrinsek bir negatif geribildirim mekanizması işlevi gören Ras GTPaz aktivitesini bozarak onkogenik etki gösterir. Negatif geribildirim kaybının bir diğer ve klinik önemi kanser tedavisinde hedef alınan sinyal yollarının baskılanması ile negatif geribildirim mekanizmasının da baskılanıyor olması ve böylece bu kaybın onkogenik sinyalleri uyarıyor ve kanser hücresinin hayatta kalmasını sağlıyor olabilmesidir (28). Örneğin, normal hücrede metabolizma ve büyümede görevli mTOR aktive olduğunda PI3K/Akt sinyal yolağı negatif geribildirim ile inhibe olur. Kanser hastalarında mTOR inhibitörleri kullanıldığında PI3K/Akt sinyal yolağı aktivitesi artacağından mTOR baskılanmasının hücre çoğalmasını azaltması beklenen etkisi gücünü kaybetmektedir (29).

2. Büyüme Baskılayıcıların Kaybı/ Duyarsızlık

Onkogenler hücre büyümesini uyarayan proteinleri kodlarken, tümör baskılayıcı genler büyüme ve çoğalmayı frenleyen proteinleri kodlar. Tümör baskılayıcı genlerin aktivasyonu sonucu oluşturulan büyüme baskılayıcı sinyaller, hücreleri G0 (istirahat) fazında kalmaya ya da postmitotik diferansiye faza geçişe zorlar ve böylelikle replikatif potansiyelin kaybı üzerinden hücre çoğalması durdurulur (9). Bu genlerin inaktivasyonu ise hücrelerin büyüme baskılanmasına karşı duyarsızlaşmasıyla sonuçlanır (9). Tümör baskılayıcı genlerin iki prototipi TP53 ve RB (retinoblastom)'dur.

Tümör baskılayıcı genlerde işlev kaybı Knudson'ın "iki vuruş hipotezi" ile açıklanmaktadır. İki vuruş hipotezi günümüzde her ne kadar Knudson Hipotezi olarak bilinse de ilk olarak 1953'te Nordling tarafından önerilmiş (30), daha sonra Knudson tarafından 1971'de açıklanmıştır (31). Bu hipoteze göre tümör baskılayıcı işlev kaybı için genin iki kopyasında da kayıp olması gereklidir. Bununla birlikte; bazı tümör baskılayıcı genlerin "doz bağımlı" etki gösterdiği ve genetik ya da epigenetik modifikasyon yoluyla tek bir allelin kaybı sonucu da malign tümör gelişebileceği bildirilmiştir (32).

Hücre siklusunun negatif düzenleyicisi olan RB geni keşfedilen ilk tümör baskılayıcı gendir. RB geninin kaybı retinoblastomlarda keşfedilmiş olsa da bu genin iki allel kaybı çeşitli tümörlerde (meme, akciğer küçük hücreli tip ve mesane kanseri) oldukça yaygın bir bulgudur. RB geni tarafından kodlanan Rb proteini (pRB) G1/S faz geçişinde anahtar bir düzenleyicidir ve birçok kanserde doğrudan ya da dolaylı etkiyle inaktive olduğu bilinmektedir. G1-S geçişi, DNA replikasyonu başlamadan önce hangi hücrelerin bu aşamayı geçebileceğini belirler (9, 33). Her ne kadar hücre döngüsünün her fazı dikkatli bir şekilde izlense de G1'den S'ye geçiş hücre döngüsünde oldukça önemli bir denetim noktasıdır. G1 fazında farklı sinyaller birleştirilir ve bir hücre, hücre döngüsü boyunca ilerleyecek mi yoksa döngüden çıkıp ayrılaşacak

mi, bu belirlenir. pRB DNA'ya bağlanan bir proteindir ve farklı sinyallerin birleşme noktası gibi işlev gösterir. Dinlenme dönemindeki hücrede pRB aktive hipofosforile durumdadır ve E2F transkripsiyon faktörünü bloke ederek G1/S geçişini engeller; özgün olarak hücre döngüsünün ilerlemesini uyarayan sinyaller, pRB'yi inaktif olduğu fosforile formda tutarken; siklus ilerlemesini durduran sinyaller pRB'yi aktif olduğu hipofosforile formda tutmaktadır (9, 33). Aktive hipofosforile form inaktive hiperfosforile forma dönüşürse E2F serbest kalır ve S fazı için gerekli transkripsiyon faktörleri uyarılır ve hücre bölünür. Bununla birlikte; pRB'nin tek hedefi E2F değildir. Çok yönlü pRB, hücre ayrılaşmasını kontrol eden pek çok başka transkripsiyon faktörüne de bağlanabilir (myosit, adiposit, melanosit ve makrofaj spesifik transkripsiyon faktörleri vb.). Böylelikle RB yolağı, hücre döngüsü ilerlemesini ayrılaşma işlemi üzerinden de G1'de kontrol eder (33).

Bunun dışında; hücre döngüsü ilişkili genlerdeki mutasyonlar da RB inaktivasyonuna neden olabilir. Normal hücrede EGF, PDGF gibi büyüme faktörleri uyarımı siklinleri aktive ederek pRB'nin hiperfosforilasyonu ve devamında transkripsiyon faktörü sentezine neden olurken TGF- β gibi büyüme inhibitörleri siklin bağımlı kinazlar (CDK) aracılığıyla siklin ekspresyonunu inhibe ederek pRB'nin hipofosforile kalmasını sağlar. Çoğu insan tümöründe hücre döngüsünün dört anahtar düzenleyicisinden (*p16*, *siklin D*, *CDK4*, *RB*) en az birinde mutasyon olduğu bilinmektedir. Bazı onkogenik virüslerin neden olduğu kanserlerde, viral onkoproteinler doğrudan pRB'yi hedef alır. Bu duruma verilebilecek en iyi örnek Human Papilloma Virus (HPV) 'dir. Bu virüs, E7 proteini aracılığıyla pRB'nin aktif hipofosforile formuna bağlanır ve pRB'yi, E2F transkripsiyon faktörünü inhibe etmekten alıkoyar (34). Böylece RB fonksiyonel olarak silinmiş olur ve bu da kontrolsüz büyümenin önünü açar.

Neoplastik hastalıklarda en sık mutasyona uğrayan gen bir diğer tümör baskılayıcı gen olan TP53'tür. 17p13.1'de yerleşmiş TP53 geni akciğer, kolon, meme kanserleri gibi sık görülen kanser tipleri başta olmak üzere pek çok kanserde karşımıza çıkabilir. Kalıtsal olarak bir mutant TP53 kopyası taşıyan bireylerde malign tümörlere yatkınlık söz konusudur ve bu durum Li-Fraumeni Sendromu olarak bilinmektedir. Li-Fraumeni Sendromu olan bireylerde daha genç yaşta ve multipl primer tümör gelişimi gerçekleşir (35, 36). p53, neoplastik transformasyon gelişimini üç mekanizma ile önlemektedir; i) Geçici bir süre hücre döngüsünün durmasını uyararak (dinlenme); ii) Kalıcı hücre döngüsü durmasını uyararak (yaşlanma); iii) Programlı hücre ölümünün başlatılmasını sağlayarak (apoptoz) (9, 10). Rb'u uyarayan sinyaller sıklıkla hücre dışı kaynaklı iken, p53'ü aktive eden uyarılar DNA hasarı, onkogen aktivasyonu, ribozomal stres ve metabolik düzensizlik gibi daha çok hücre içi kaynaklıdır (9, 10). Bu durumda, Rb dış sinyalleri alan bir algılayıcı olarak görülürse, p53 daha çok hücre içi stresi görüntüleyen bir monitör gibi düşünülebilir.

DNA hasar yanıtının düzenlenmesi ve genom bütünlüğünün korunmasında p53 merkezi bir rol oynar. Sağlıklı bir hücrede p53 proteini yarılanma ömrü, onu yıkan bir protein olan MDM2 ile etkileşimine bağlı olarak kısadır (20 dk. gibi). Hücre stres altında kaldığında, ATM (Ataksi telenjiectazi mutasyonlu) gibi protein kinazları içeren algılayıcılar aktive olur (17). Bu aktive algılayıcılar, p53'ü fosforilleyerek MDM2'den ayrılmasını sağlar ve böylelikle p53'ün yarı ömür süresini uzatırlar. Aktive p53, p21 gibi CDK inhibitörlerini aktive ederek hücre siklusunu G1-S kontrol noktasında duraklatır ve DNA onarım genlerini aktive eder (17). DNA hasarı onarılabiliirse hücre kaldığı yerden hücre siklusuna geri döner, ancak geri dönüşsüz DNA hasarı varsa hücrede apoptozis ya da yaşlanma sürecini tetikler. Apoptotik süreç BAX ve PUMA'yı içeren çeşitli proapoptotik genlerin artışı ile sağlanır (9, 10, 37). Yaşlanma sürecinin mekanizması açık olmamakla birlikte, global kromatin değişiklikleri üzerinden gen ekspresyonu değişimi ile sağlandığı düşünülmektedir (9, 10, 37). p53 işlev kaybı gerçekleştiğinde ise DNA hasarı onarılamaz, genetik değişiklikler birikerek hücrede malign transformasyonu başlatır. İnsan kanserlerinin %70'inden fazlası TP53 geninde defekt içerirken, kalan diğer maligniteler ise p53'ün artmasına veya azalmasına neden olan genlerde defekt içerir. İyi bilinen bazı onkojenik DNA virüsleri de (HPV, bazı polyoma virüsleri ve HBV gibi), tıpkı Rb örneğinde olduğu gibi p53'ü non-fonksiyonel kılabılır (38).

Diğer bir tümör baskılayıcı gen, adenomatozis polipozis koli (APC) büyüme sinyal yollarını baskılayan bir tümör baskılayıcı gendir. APC genindeki germline mutasyonlar genç yaşta adenomatöz kolon polipleri ve kolorektal karsinom gelişimi ile seyreden Familial Adenomatöz Polipozis (FAP) Sendromu ile ilişkilidir (17). Normal hücrede WNT sinyali yokluğunda APC'nin kodladığı protein β -katenini parçalayan bir kompleks oluşturarak sitoplazmada birikimini engeller. APC geninde işlev kaybına yol açan mutasyon olduğunda ya da Wnt yolağı aşırı aktive olduğunda β -katenin parçalayıcı kompleks oluşamaz, β -katenin sitoplazmada birikir, sitoplazmadan nükleusa geçer ve DNA bağlayıcı faktör TCF ile bir transkripsiyon aktivasyon kompleksi oluşturarak Myc gibi transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonuna neden olur. FAP dışında sporadik kolon kanserlerinin de yaklaşık %70'inde her iki allelde APC mutasyonları görülür.

Hücre çoğalmasını baskılayan başka sinyal yolları ve moleküller de mevcuttur. TGF- β yolağının antiproliferatif etkileri iyi bilinmektedir. TGF- β , kemik-morfojenik proteinler ve aktivinleri içeren, dimerik büyüme faktörleri ailesinin bir üyesidir (10). Hücresel işlemler üzerindeki etkisini, TGF- β reseptörleri I ve II'den oluşan komplekslere bağlanmak yoluyla gerçekleştirir (10). Bu bağlanma ile tetiklenen bir grup tepkime, büyümeyi baskılayan CDK inhibitörlerinin transkripsiyonel aktivasyonu ile büyümeyi uyararak MYC ve CDK4 gibi genlerin inhibisyonuna neden olur (10). Kanser pek çok formunda, mutasyonlar nedeniyle TGF- β 'nin büyümeyi inhibe edici

etkisi bozulur. Hatta bazı ileri evre tümörlerde epitelyal mezankimal transizyon olarak adlandırılan hücresel programı aktive edecek şekilde TGF- β sinyalizasyonu değişikliğe uğrar.

Proliferasyonu önleyen bir diğer durum kontakt inhibisyonudur. Normal dokularda "kontakt inhibisyon" adı verilen süreç, hücreler birbirine temas ettiğinde hücre çoğalmasının durmasını tanımlar. Bazı kanserlerde bu mekanizmanın ortadan kalkmış olduğu ve bu durumdan tümör baskılayıcı genlerle ilgili mekanizmaların sorumlu olabileceği düşünülmektedir (10). Bir tümör baskılayıcı gen olan NF2'nin ürünü Nörofibromin (Merlin), hücre yüzey adezyon molekülleri (E-kadherin vb) ile transmembran reseptör tirozin kinazlar (EGF reseptörü gibi) arasındaki bağlantıyı sağlayarak kontakt inhibisyonu yönetir (39). Bunun dışında, E-kadherin bir başka sinyal proteini olan β -katenini bağlama özelliğine sahiptir. β -katenin, WNT sinyal yolağının anahtar bileşenidir (10). Benzer şekilde, çeşitli malignitelerde işlev kaybı bildirilen ve mutasyonu Peutz-Jeghers Sendromu ile ilişkili olan LKB1 (STK11) tümör baskılayıcı geni, bir epitelyal polarite proteini olan LKB1'i kodlar. LKB1 geninde işlev kaybına bağlı LKB1 protein sentezi baskılandığında, epitel hücrelerinin Myc ile uyarılan transformasyona yatkın hale geldiği bildirilmiştir (40, 41).

3. Hücre Ölümüne Direnc

Apoptozdan Kaçış Yeteneğinin Kazanılması

Tümör hücrelerinin sayıca artma yeteneği, sadece hücre çoğalma hızıyla değil, aynı zamanda hücre kaybının hızı ile de belirlenir. Programlanmış hücre ölümü yani apoptoz, bu kaybın ana kaynağını oluşturarak kanser gelişimine doğal bir engel teşkil etmektedir (10).

Apoptoz, geri dönüşsüz genetik hasar meydana gelen hücrelerin ortadan kaldırılmasını sağlayarak organizmayı neoplastik lezyon gelişiminden koruyan önemli bir biyolojik süreçtir. Normal hücrelerde proapoptotik ve antiapoptotik düzenleyicilerin kontrolü doku mikroçevresinin ya da büyüme faktörlerinin sağladığı uygun sinyallerin olmadığı koşullarda, hücrenin apoptozise gitmesini garanti altına alır. Hücre nükleusunda DNA hasarı tamir edilemeyecek boyuta geldiğinde apoptoz programları aktive olmaktadır. ATM gibi bazı kinazlar, DNA hasarını tarayıp saptarlar, eğer DNA hasarı kontrol edilemeyecek düzeyde ise ATM, p53 gibi hücre döngüsünde kontrol noktalarında yer alan pek çok proteini, hücre ölümünü desteklemek üzere fosforile eder. p53'ün yarı ömrü uğradığı fosforilasyon ile uzar. Fosforile p53 hücre yıkımını hedefleyen proteinlere bağlanamaz ve stabilize hale gelir. Stabilize p53, proapoptotik proteinlerin ekspresyonunu artırırken anti-apoptotik gen olan BCL2 ekspresyonunu baskılar. Böylece hem DNA tamir mekanizmalarını aktive eder hem de ölüm proteinlerinin salınımını baskılar. Ancak onarım yetersiz olursa, hücreyi apoptoza götürür (42). p53, hem proapoptotik düzenleyicilerin transkripsiyonunu uyararak hem de proapoptotik protein BAX'a direkt bağlanarak

apoptozu düzenler. Belirli seviyelere ulaşan DNA kırıkları ve diğer kromozomal anomalilere yanıt olarak Noxa ve Puma proteinlerinin ekspresyonunu artırarak apoptozisi uyarır (43).

Apoptoz hücrede intrinsek (mitokondrial) ya da ekstrinsek yollarla uyarılabilir (44). Intrinsek yolda stres, hücre hasarı, büyüme sinyallerinin yokluğu gibi çeşitli nedenlerle mitokondri dış zarının geçirgenliği artar ve sitozole sitokrom-C gibi apoptozu başlatıcı moleküller salınır. Mitokondri dış zarının geçirgenliği BCL-2 protein ailesi tarafından kontrol edilir. Apoptozun uyarılması ve mitokondri geçirgenliğinin artması için proapoptotik proteinler olan BAX ve BAK'ın ekspresyonu gereklidir. Proapoptotik proteinlerin işlevi BCL-2, BCL-XL gibi anti-apoptotik proteinler tarafından antagonize edilir. Ayrıca, antiapoptotik proteinlerin etkisini nötralize eden, en bilinen üyesi BAD olan BH3 protein ailesi üyeleri apoptozu indüklemektedir. Sonuç olarak, BAX ve BAK aktive olduğunda ve BCL-2 gibi antiapoptotik proteinlerin etkileri nötralize edildiğinde mitokondri dış zarında geçirgenlik artarak porlar oluşur. Mitokondriyal disfonksiyonun başlaması BID proteini ile ilişkilidir. BID proteini kaspaz-8 tarafından aktive edildikten sonra mitokondrilerden sitokrom-C salınmaya başlar (45). Oluşan sitokrom-C Apaf-1 aktivasyonunu sağlar, aktive Apaf-1 kaspaz-9'u aktive eder. Aktive olan kaspaz-9, kaspaz-8 ile birlikte kaspaz-3 aktivasyonunu gerçekleştirir. Kaskadın en sonunda aktive olan kaspaz-3 nükleazları aktive eder ve DNA'nın yıkılması ile hücrenin ölümüne sebep olur (42).

Ekstrinsek yol "ölüm reseptörleri" aracılığıyla aktive olur. Ölüm reseptörleri, tümör nekroze edici faktör (TNF) reseptörünün süper ailesi üyeleridir ve TNF-R1, Fas ve p75 NTR'yi içerirler. CD95/Fas, Fas liganda bağlandığında apoptoz sinyali aktive olur. Fas ligand reseptörü trimerize olarak hücre içi adaptör protein FADD'ı uyarır; bu süreç prokaspaz 8'in sinyal kompleksine dahil olması ve kaspaz-8, kaspaz-3 gibi diğer kaspazların aktivasyonu ile devam eder (46, 47).

Tümör hücreleri apoptozu sınırlamak veya önlemek için çeşitli stratejiler geliştirerek apoptozdan kaçabilir. Bunlardan en yaygın olanı, daha önce belirtildiği gibi, bu kritik hasar algılayıcısını apoptoz indükleyen devre sisteminden yok eden p53 tümör baskılayıcı işlevinin kaybıdır (7, 10, 43, 44). Neoplastik hastalıkların çoğunda TP53 mutasyonu görülür. p53'ün normal hücrede geri dönüşsüz hasar durumunda apoptozu indüklediği düşünülürse, TP53 mutant tümör hücrelerinin apoptozdan kaçışının daha kolay olacağı açıktır. Tümör hücrelerinde düşük CD95/Fas düzeyleri bu hücrelerin apoptozda daha az duyarlı olmasına neden olur ve Fas/Fas ligand (Fas/FasL) yolağını uyararak tümör hücrelerinde apoptozu indükleyecek kemoterapötiklerin kullanımı tedavide tercih edilebilmektedir (48). Ek olarak, Fas/FasL aracılı apoptoz inhibitörü FLIP (FLICE-inhibitory protein) ekspresyonu, apoptozdan kaçış için diğer bir yol olup, melanomlarda ve lenfomalarda düzeyleri yüksek bulunmuştur (49).

BCL-2'nin apoptozu engelleyici etkisi özellikle lenfoid malignitelerde önem taşımaktadır. Örneğin; antiapoptotik protein BCL-2'nin aşırı ekspresyonu B lenfositlerde kromozomal translokasyonlar sonucu ortaya çıkabilir ve hücrelerin apoptozise gitmesine engel olarak foliküler lenfoma gelişimine katkıda bulunur. Foliküler lenfomada görülen (14;18) (q32;q21) translokasyonu, BCL-2 proteininin aşırı ekspresyonunu ve böylece neoplastik lenfoid hücrelerin apoptozdan kaçmasını sağlar. Yapılan bir çalışmada farelerde BCL2 geni, bir MYC onkojeni ile birlikte eksprese edildiğinde, Myc-indüklü proliferasyonu daha fazla uyararak değil, lenfosit sağ kalımını artırarak B hücreli lenfomaların oluşumunu tetiklediği görülmüştür (45). Bununla birlikte; önceki çalışmalarda BCL2 ve MYC mutant farelerde pre-B ve B hücrelerde aşırı proliferasyon ve sadece MYC mutant farelere göre daha hızlı tümör gelişimi saptanmıştır (50). BCL2 aşırı eksprese eden transgenik farelerde nadiren lenfoma gelişirken daha çok lenfoid hiperplazi ve otoimmün hastalıklar ortaya çıkması, kanser gelişimi için BCL2 aşırı ekspresyonuna başka genetik değişikliklerin eklenmesi gerektiğini işaret etmektedir (17).

Ras-ERK ve PI3K-Akt yolları da hücre ölümünü pek çok yol ile düzenlemektedir. Akt FoxO3A gibi forkhead-ailesi transkripsiyon faktörlerini fosforile ederek, ölüm ligandlarının (örn. FasL ve TRAIL gibi) ve proapoptotik protein BIM'in indüksiyonunu bloke eder. Akt ve RSK, proapoptotik protein BAD'ı fosforile (inaktive) eder. Akt, NF- aktive ederek antiapoptotik proteinleri (BCL-2, BCL-XL, Mcl1) ve intraselüler ölüm reseptör inhibitörü (FLIP) regüle eder. Akt'nin indüklediği p53 degradasyonu, p53 aracılı apoptozu baskılar (7).

Otofaji

Otofaji, hücresel homeostazisin sağlanmasında ve stres durumunda hücre canlılığının korunmasında önemli rolü olan katabolik bir hücresel süreçtir (51). Normal şartlar altındaki hücrelerde bazal seviyelerde etki gösteren ancak, beslenme yetersizliği gibi hücresel stres durumlarında daha şiddetli olarak indüklenen önemli bir fizyolojik hücresel yanıtıdır. Otofajide, hücresel organeller lizozomlar ile birleşen otofagozomlar içine alınarak sindirilir ve ortaya çıkan katabolitler geri dönüştürülür ya da biyosentez/enerji metabolizması için kullanılır (10) mTORC1 (the mammalian target of rapamycin complex 1) otofajinin temel düzenleyicisidir (51). Otofaji, apoptozis ve hücresel homeostazis mekanizmaları birbiri ile etkileşim içindedir. Örneğin PI3K, Akt ve mTOR gibi apoptozisi inhibe eden sinyal yolları otofajiyi de baskılamaktadır. Otofajinin tümörigenez üzerindeki etkisi karmaşık ve iki uçludur. Otofaji apoptozis ile birlikte ya da ayrı olarak tümörigenezi engelleyici etki gösterebilir ancak kanserde beslenme yetersizliği, radyoterapi ve sitotoksik ilaçlar otofajiyi artırarak kanser hücreleri için koruyucu bir etki de oluşturmaktadır (10). Metabolik stres ile karşı karşıya kalan tümör hücreleri otofaji aracılığıyla metabolizmalarını

yeniden programlayarak sağ kalabilirler ve böylece hızlı hücre büyümesi ve proliferasyonu artırabilirler (51). Ayrıca yoğun stres altında kalan kanser hücrelerinin otofaji aracılığıyla geridönüşlü bir uyku haline girdikleri gösterilmiştir. Bu hücrel yanıtın ileri evre tümörlerde kemoterapi sonrası görülen progresyonda etkili olduğu düşünülmektedir. Otofaji tümörigenezin erken aşamalarında tümör baskılayıcı etki gösterirken, daha ileri aşamalarda tümör progresyonunda yol oynamaktadır (10). Bazı kanser tiplerinde otofaji uyarımı için esansiyel düzenleyici olan Beclin-1'de delesyonlar saptanmış olup bu otofaji defektlerine sebep olmaktadır. Özellikle Ras aktivasyonu gösteren bazı kanser tiplerinde ise bazal otofajinin arttığı ve tümör hücrelerinin hayatta kalması ve büyümesi için otofajiye bağımlı olduğu gösterilmiştir. Otofaji defektleri, oksidatif stres, DNA hasarı birikimi, genomik instabilite ve inflamasyonun devamlılığı ile ilişkili olarak kanser progresyonunu artırırken, otofaji artışı kanser hücrelerinin stres altında hayatta kalmalarını sağlayarak, kemoterapi direnci gelişimine katkıda bulunur (51).

Nekroz

Önceden kabul edilen, rastgele ve kontrolsüz bir süreç olduğu görüşünün aksine, nekrozun da bazı durumlarda genetik kontrol altında olduğu bilinmektedir. Apoptozis ve otofajiden farklı olarak, nekrotik hücre ölümü, tümör mikroçevresine proinflamatuvar sinyaller göndererek inflamatuvar hücrelerin bu alana toplanmasına neden olabilirler. Neoplazide inflamatuvar hücrelerin anjiyogenez, kanser hücre proliferasyonu ve invazyon yeteneğini artırıcı etkiler gibi tümörigenezi uyaran etkiler gösterebildiğine dair çok sayıda kanıt mevcuttur. Ayrıca nekrotik hücrelerin kendileri de komşuluğundaki canlı tümör hücrelerinin proliferasyonunu uyaran faktörler üretebilmektedir (10).

4. Sınırsız Çoğalma Yeteneği

Tümörü oluşturan hücrelerin en azından bir kısmı kök hücre benzeri ölümsüzlük ve sınırsız çoğalma yeteneğine sahiptir. Hücrelerin sınırsız bölünme potansiyeli, yaşlanma ve mitotik krizden kaçabilme yanı sıra kendini yenileyebilme yeteneği ile ilişkilidir (17).

Yaşlanmada en önemli mekanizma Denham Harman tarafından (52) öne sürülmüş olan serbest oksijen radikali teorisidir. Hücrede biriken serbest oksijen radikalleri, vücudun oksidatif strese karşı savunma mekanizmaları zayıfladığında (enzimler ve antioksidanlar) yaşlanmaya neden olur. Diğer teori ise Hayflick tarafından (53) önerilen replikatif yaşlanma teorisidir. İnsan vücudundaki hücrelerin çoğu sınırlı (60-70 kez) bölünme kapasitesine sahiptir (53). Belirli bir sayıda bölünmeden sonra normal hücreler ya bölünemez duruma geçerler (yaşlanma ["senesans"]) ya da ölürlür. Kromozomların uçlarında "telomer" adı verilen spesifik DNA sekansları bulunur. Telomerler; çoklu, ardışık, kodlanmayan, nükleotid tekrarlarıdır (TTAGGG). Her hücre bölünmesinin sonunda telomerler kısalarak en sonunda kritik uzunluğa

(yani kısalığa) ulaştığında yaşlanma ilişkili mekanizmalar tetiklenir. Hücre yaşlanmasının TP53 ve p16^{INK4a} gibi tümör baskılayıcı genlerin up-regülasyonu ve RB-bağımlı hücre döngüsü arresi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (17). RB ve TP53 inaktivasyonunun karsinogenezdeki rolü önceki bölümlerde anlatılmıştır. Buna ek olarak; kanser hücrelerinde telomer uzunluğunun korunduğu bilinmektedir.

Somatik hücrelerin önemli oranında bulunmamakla birlikte kök hücrelerde "telomeraz" adı verilen ve nükleotid ekleme yoluyla telomer uzunluğunu koruyan bir enzim bulunur. Malignitelerin %85'inde telomeraz aktivitesi kazanma yoluyla sınırsız bölünme yeteneğine ulaşıldığı; geri kalan %15'te ise temel olarak homolog rekombinasyona dayanan alternatif telomer uzaması ile telomer uzunluğunun korunduğu bildirilmiştir (54, 55). ATRX/DAXX gen mutasyonları ve protein ekspresyon kaybı alternatif telomer uzaması ile ilişkili başlıca durumlardır ve miRNA'ların da bu süreçte rol oynadığı düşünülmektedir (54).

Yaşlanmaya dirençli olan hücreler artmış çoğalma yeteneği göstermelerine karşın ölümsüz değildirler ve er ya da geç mitotik kriz olarak adlandırılan bir duruma girerler ve ölürlür. Bu durumun telomerlerin ilerleyici kısalmasına bağlı geliştiği düşünülmektedir. Telomerik DNA kritik düzeyde kıaldığında/tükendiğinde normal hücrelerde p53 aktivasyonu ile hücre siklusu durdurulur ve hücre apoptoza gidebilir. Ancak p53 işlev kaybı varsa homolog olmayan rekombinasyon sonucu kromozomların çıplak uçları birleştirilebilir, uç-uça kromozom birleşmesi disentrik kromozom ve DNA'da yeni kırıklara neden olur ("breakage-fusion-bridge cycle": kırılma-birleşme köprü döngüsü) ve hücre mitotik yıkım ve ölüme ilerler. Bununla birlikte; hücrede telomeraz reaktivasyonu sağlanabilirse telomerler onarılabilir ve hücre ölümden kaçabilir ancak bu hücrelerde mitotik kriz sırasında onkogen ve tümör baskılayıcı genlerde hasar gelişirse bu hücrelerde malign değişim riski yüksek olacaktır.

Kök hücrelerin bir özelliği olan "kendini yenileme" yeteneği, her bölünme sonrasında oluşan hücrelerden en az birinin kök hücre özelliğini devam ettirebilmesidir. Bir tümörü oluşturan hücrelerin bir kısmı kendini yenileme yeteneğine sahiptir ve bu nedenle "kanseri kök hücresi" (KKH) olarak adlandırılmaktadır. KKH'ler kendini yenileme yeteneğinin yanı sıra sınırsız çoğalma ve ayrışma yetenekleri gösterir; başka bir konaya enjekte edildiğinde tümör oluşturabilirler ve metastaz ve nükslerde bu hücrelerin önemli rol oynadıkları düşünülmektedir. CD44, CD24 ve CD133 gibi bazı yüzey reseptörlerinin varlığı KKH'ler ile tümör içerisindeki diğer hücrelerden ayırt edilebilirler ve miRNA'lar, Wnt/ β -katenin, Notch ve Hedgehog sinyal yollarının çoklu etkileşimlerle KKH özelliklerini düzenlediği gösterilmiştir (56).

5. Anjiyogenez ve Anjiyogenezin Sürdürülmesi

Tümör büyümesi ve metastazı, oksijen, besin maddeleri ve diğer temel faktörleri sağlayacak bir damar sisteminin kurulmasına

bağlıdır (57). Bir tümörün boyut olarak 1-2 mm'yi aşabilmesi için anjiyogenezi indüklemeye yeteneğinin olması gereklidir. 1-2 mm sınırı damarlardan oksijen, besinler ve metabolik atıkların difüzyon ile yayılabileceği maksimum uzaklık olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle de büyüebilmek için tümörün yeni damar yapımını başarabilmesi şarttır. Tümörde anjiyogenez ile hem ihtiyaç duyulan besin ve oksijen gibi maddeler sağlanır hem de yeni oluşan damarlar IGF, PDGF gibi büyüme faktörlerinin sentezini uyarırlar. İlginç olarak, pankreatik duktal adenokarsinom gibi bazı tümörlerde vaskülarite minimal düzeydeyken nöroendokrin karsinom gibi bazı tümörlerin damardan zengin oluşu tümorigenezin ileri evrelerinde tümör mikroçevresine bağlı olarak anjiyogenez düzeyinin değişiklik gösterdiği şeklinde düşündürmektedir (10).

Yara iyileşmesi, embriyogenez gibi dönemlerde anjiyogenez geçici olarak indüklenmektedir. Buna karşılık; tümörde anjiyogenez sürekli olarak devam etmektedir (58) ve anjiyogenezi uyaran vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A), fibroblast büyüme faktörü (FGF) gibi sinyal proteinlerinin ekspresyonu tümör hücrelerinde artmış iken trombospodin-1 (TSP-1) gibi anti-anjiyogenik büyüme faktörlerinin ekspresyonu azalmıştır (10). Fizyolojik anjiyogenezde yeni oluşan kapiller perisitlerle ve vasküler bazal membranla kaplanırken anjiyogenezin bu bölümü tümör anjiyogenezinde tamamlanmaz. Özellikle malign tümörlerde atipik damar yapısı gözlenir; erken ve aşırı dallanma gösteren, kıvrımlı damarlar, anormal kan akımı, mikrokanaamalar, belirgin endotel hücre proliferasyonu ve apoptoz tümör damar ağında sık görülen özelliklerdir (59, 60).

Tümörde hipoksi; *HIF1- α* 'nın ekspresyonuna ve *HIF1- α* ekspresyonu VEGF, FGF gibi proanjiyogenik sitokinlerin aktivasyonuna neden olarak endotel hücrelerinin çoğalmasını ve sonuç olarak da yeni damar yapımını başlatır. Tümörün büyümesini sağlayan anjiyogenik faktörler arasında en çok bilineni VEGF'dir. VEGF aynı zamanda yeni damarların dallanmasını ve yoğunluğunu düzenleyen Notch sinyal yolağını aktive eden ligandların ekspresyonunu artırır (17). VEGF'nin transkripsiyonu ayrıca Ras/MAPK yolağı tarafından da kontrol edilir ve RAS ya da MYC genlerindeki mutasyonlar VEGF'nin ekspresyonunu uyarır. Deneysel modellerde VEGF reseptörü aktivitesinin engellenmesi ile tümörün belirgin olarak küçüldüğü gösterilmiştir. Son dönemde VEGFR inhibitörleri birlikte, PDGFR, FGFR ve anjiyogenik faktör inhibitörlerine yönelik ilaçlar da klinikte araştırmalarda kullanılmaya başlanmıştır.

6. Invazyon ve Metastaz Yeteneği

Tümörler maligniteye doğru ilerledikçe göç edebilir hale gelir ve çevre dokulara invazyon kapasitesi kazanır. Bu invazyon ve göç özelliklerine, adhezyon, hücre polaritesi, hücre iskeleti dinamikleri ve morfolojideki değişiklikler eşlik eder (7). Invazyon ve metastaz çok aşamalı bir süreçtir; lokal

invazyon, yakındaki kan/lenfatik damarlar içine giriş, lenfatik/hematojen dolaşım içinde taşınma, damar lümeninden uzak organ parankimine geçiş, küçük tümör nodülleri oluşturma (mikrometastaz) ve makroskopik tümör gelişimi (kolonizasyon) temel basamakları oluşturur. Kanser hücreleri invazyon ve metastaz yapabilmek için birbirleriyle ve ekstraselüler matriks (ESM) ile olan bağlantılarını değiştirecek değişiklikler geliştirirler. Karsinom hücrelerinde en iyi bilinen değişiklik hücre-hücre adezyon molekülü olan E-kadherin kaybıdır (10). Sonraki basamakta bazal membran ve ESM parçalanır; ESM'nin parçalanmasında matriks metalloproteinazlar (MMP), katepsin D ve ürokinaz plazminojen aktivatörü gibi enzimler rol oynar. Proteolitik enzimler aynı zamanda ESM'ye büyüme faktörleri salarlar ve ESM glikoproteinlerinin yanklanması ile kemotaktik ve anjiyogenik fragmanlar oluştururlar. Tümör hücreleri parçalanmış ESM proteinlerine bağlanır ve bu da migrasyon sürecini başlatarak hücrelerin parçalanmış bazal membran ve matriks alanından çevre dokulara geçişi sağlar (61).

TGF- β , Wnt- β -katenin ve Notch yollarının uyardığı epitelyal mezenkimal transizyon (EMT) lokal invazyonda temel olaydır (62). EMT epitelyal hücrelerin adezyon ve polarite gibi epitelyal özelliklerini kaybederek mezenkimal özellikler kazanmasıdır ve vimentin, N-kadherin gibi mezenkimal belirleyicilerin ve *SNAIL*, *SLUG*, *ZEB1/2*, *TWIST* gibi bazı spesifik transkripsiyon faktörlerinin up-regülasyonu ve E-kadherin, sitokeratinler gibi epitelyal belirleyicilerin ekspresyon kaybı ile karakterizedir (61). Mezenkimal transformasyon gösteren karsinomların daha agresif seyrettiği bilinmektedir.

EMT yara iyileşmesi, embriyonik morfogenez gibi çeşitli fizyolojik durumlarda görülmektedir. Tümörlerde genellikle invaziv sınırdaki bazı epitelyal hücre grupları parsiyel olarak EMT'ye uğrayarak invazyon yapma, apoptozise karşı direnme ve yayılım gibi yetenekler kazanır. EMT bazal polaritenin kaybı, E-kadherin hücre adezyon molekülünün down regülasyonu, hücrelerde daha çok fibroblast benzeri görünüm kazanma, bazı durumlarda kök veya progenitor hücre görünümü kazanma ile karakterlidir. EMT, tümör hücrelerinin invazyonu ve yayılması için olmazsa olmaz bir özellik değildir (7). Tümör stromasında bulunan mezenkimal kök hücreleri kanser hücrelerinin invaziv davranış potansiyelini artırıcı CCL5/RANTES gibi faktörler salgılayabilir. Makrofajlar ve diğer peritümoral inflamatuvar hücreler, metalloproteinazlar gibi matriks yıkımına sebep olan enzimler salgılayarak invazyonu kolaylaştırmaktadır. Invaziv büyüme kapasitesi geri dönüşlü olabilir. Özellikle EMT aracılığıyla olduğu durumda, ilk invazyon-metastaz aşamasında EMT'ye uğrayan karsinom hücreleri ters yönde mezenkimal-epitelyal transformasyona uğrayabilir. Ayrıca kanser hücreleri çoğu olguda parsiyel olarak EMT'ye uğramaktadır. Farklı kanser tiplerinde farklı invazyon formları aktif olabilmektedir. EMT, "mezenkimal" tip invazyon olarak adlandırılan bir program düzenler. "Kollektif" tip invazyon ise, kanser hücrelerinin nodüller oluşturarak

çevre dokulara yayılım gösterdiği, metastaz yeteneği daha zayıf olan ve genellikle skuamöz hücreli karsinomlarda karşımıza çıkan bir invazyon biçimidir. “Amoeboid” invazyon ise kanser hücrelerinin şekillerini değiştirerek ESM içinde normalde var olan aralıklardan geçebilmesi ile karakterli ve bu yönüyle diğer iki invazyon biçiminden farklılık gösteren bir invazyon formudur (10).

PI3K-Akt ve Ras-ERK yolakları da çok sayıda efektör aracı ile migrasyon ve invazyonu düzenler. Pek çok etkileşim yoluyla bu yolakların komponentleri hücre polaritesi ve doku organizasyonunu düzenleyen sinyal yolaklarını kontrol eder. Hücre polarite kaybı sıklıkla hücre proliferasyonu ile beraberdir. Çünkü hücre adezyon moleküllerinin kaybı kontakt inhibisyonu azaltır (7). Migrasyonda ayrıca bir apoptozis formu olan anoikise direnç gelişimi önemli rol oynar. Dolaşımdaki tümör hücreleri, ESM'ye adezyon kaybı, makrofaj ve doğal öldürücü hücrelerin immün gözetimi gibi şiddetli stres durumları ile yüzleşmektedir. Epitelyal hücrelerde ESM'ye integrin bağımlı adezyon hücrelerin sağ kalımı için gereklidir. Bu adezyonu kaybeden hücreler anoikis ile karşı karşıya kalır. Dolaşımdaki tümör hücrelerinin anoikisten kaçmalarını sağlayan moleküller bulunmaktadır. TGF- β dolaşımdaki tümör hücrelerinin immün gözetimden kaçmasında da önemli rol oynamaktadır (62).

Dolaşıma geçen tümör hücreleri genellikle karşılaştıkları ilk kapiller yatakta duraklarlar ancak bazı tümörler organ tropizmi gösterebilirler (Örneğin; prostat kanseri kemiğe, pankreas kanseri karaciğere metastaz yapar) (61). Bazı tümörlerin organ yönelimi göstermesi şu durumlar ile açıklanmıştır; i) Tümör hücreleri özellikle hedef organdaki endotelial hücrelerde eksprese edilen ligandlar ile uyumlu adhezyon moleküllerine sahip olabilir, ii) Kemokinler, metastaz için hedef dokuların seçilmesinde önemli rol oynayabilir, iii) Hedef doku, metastatik hücrelerin büyüüp gelişebilmesi için elverişli bir ortam olabilir/olmayabilir. Kolonizasyonun moleküler mekanizmasıyla yaygın inanç, tümör hücrelerinin önce stromal hücreleri etkilemek üzere sitokinleri, büyüme faktörlerini ve proteazları sekrete ettiği, bunun da daha sonra tümör hücrelerini metastatik bölgeye yerleşilebilir kıldığı yönündedir (10, 63). Bu noktada “premetastatik niş” kavramı karşımıza çıkmaktadır. Metastatik tümör hücrelerinin yaşaması ve büyümesi için destek sağlayan, uzak organdaki tümör mikroçevresi “metastatik niş” olarak adlandırılmaktadır. Bununla birlikte, tümörlerin uzak organlardaki mikroçevreyi, henüz tümör hücreleri oraya ulaşmadan önce, hayatta kalma ve büyümeleri için daha uygun hale getirebildikleri son yıllarda yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu, önceden belirlenmiş ve değişikliğe uğratılmış mikroçevrelere “premetastatik niş (PMN)” denilmektedir. PMN'ler tümör tarafından salınan faktörler ve tümörden dökülen ekstraselüler veziküllerin kombine sistemik etkilerinin sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Vasküler sızıntı bu süreçte görülen ilk olaydır. Bunu fibroblastlar gibi lokal

hücrelerdeki değişiklikler ve kemik iliği kökenli hücrelerin o bölgede toplanması izler. PMN sürecinde kemik iliği kökenli hücreler o bölgede kolonize olur ve fibroblast gibi lokal hücreler ile birlikte primer tümör tarafından salınan faktörler ve tümörden dökülen ekstraselüler veziküllerin (egzozom) taşıdığı sinyaller sayesinde dolaşımdaki tümör hücreleri gelmeden önce spesifik organın mikroçevresinin metastaz için hazır hale getirilmesi sağlanmaktadır. PMN sürecinde ESM'nin yeniden düzenlenmesi kritik bir basamağı oluşturur. Ayrıca PMN'lerde tümörün salgıladığı faktörlerin etkisiyle immünsupresyon sağlanmaktadır (64).

Metastaz kanser hücrelerinin primer tümörden uzak dokulara fiziksel diseminasyonu ve bu hücrelerin bu yabancı dokuya adaptasyonu olmak üzere iki temel faz içerir. Her zaman kolonizasyon ile diseminasyon bir arada bulunmaz. Başarılı şekilde disemine olmuş ancak mikrometastaz düzeyinde kalmış ve hiçbir zaman makroskopik metastatik tümöre progrese olmamış olguların olduğu bilinmektedir. Bazı kanser tiplerinde primer tümörün salgıladığı sistemik baskılayıcı faktörler mikrometastazların sessiz halde kalmasına neden olmaktadır. Ancak primer tümörün cerrahi olarak çıkarılması sonrasında bu baskılayıcı etki ortadan kalktığı için yaygın metastatik hastalık görülebilmektedir. Bazılarında ise primer tümörün cerrahi ya da farmakolojik olarak yok edilmesinden dekatlar sonra metastatik hastalık ortaya çıkabilmektedir. Tüm bu durumlar sessiz mikrometastazların varlığını yansıtmaktadır. Mikrometastatik uyku hali, mikrometastazların anjiyogenezi aktive etme kabiliyetindeki yetersizlik, beslenme eksikliğine bağlı olarak otofajinin uyarılması, metastazın bulunduğu dokudaki normal ESM'nin salgıladığı büyüme karşıtı sinyaller ve bağışıklık sisteminin tümör baskılayıcı etkileri gibi mekanizmalar ile ortaya çıkabilmektedir. Disemine olan hücrelerin yeni dokuya adapte olabilmeleri için doku mikroçevresi tümör hücreleri için elverişli hale getirilebilmektedir (10).

Premalign noninvaziv lezyonlardan hücrelerin disemine olabileceği ve hatta invazyon bulguları göstermeyen primer tümörlerden mikrometastatik odakların geliştiği gösterilmiştir. Ancak disemine olan bu tümör hücrelerinin kolonize olabildiği ve makrometastaz oluşturabildiği yönünde kanıt yoktur. Premalign lezyonlardan diseminasyonun klinik anlamı şu an için belirsizdir. Bir diğer ilginç özellik, metastatik kolonilerdeki kanser hücrelerinin tekrar dağılarak başka dokulara gidebileceği gibi primer odağa geri dönebilmeleridir (10).

Metastazların en azından bir kısmı primer tümörde bulunan bazı mutasyon ya da gen regülasyonu değişiklikleri nedeniyle ortaya çıkar. Bazı gen ekspresyon değişikliklerinin metastaz gelişimi ile korelasyon gösterdiği gösterilmiştir. Bu metastaz ilişkili gen ekspresyon değişiklikleri “metastatik imza” olarak adlandırılmaktadır. Metastazi işaret eden bu gen değişikliklerinde, eksprese olan moleküller tümör hücrelerinden kaynaklanabileceği gibi tümör mikroçevresindeki hücrelerden

kaynaklanabilmektedir. Yukarıda da ayrıntılı olarak bahsedildiği gibi kolonizasyon ve metastaz gelişimi için neredeyse her zaman tümör mikroçevresindeki hücrelerin katkısı ve tümör-host etkileşimleri gereklidir (10, 65).

7. Enerji Metabolizmasının Yeniden Düzenlenmesi

Otto Warburg'a Nobel Ödülü kazandıran ve kendi adıyla anılan Warburg Etkisi'ne göre (66) tümör hücreleri hücreye yüksek glukoz alımı ve glikolitik yol üzerinden glukozun laktoza çevrilmesiyle karakterize bir metabolik süreç ile enerji elde etmektedir ve bu olay aerobik glikoliz olarak da bilinmektedir. Aerobik glikoliz, kanser hücresine büyüme ve çoğalması için gerekli ara metabolitleri sağlamaktadır. Kanser hücresi besin sağlamak için fırsatçı konumdadır; hücreye glukoz ve aminoasitlerin girişi artmıştır, biyosentez ve NADPH üretimi için glikoliz/Krebs döngüsü kullanılır, metabolizmadan sorumlu genlerde değişiklikler mevcuttur (67).

Sitoplazmaya glukoz taşınmasını sağlayan GLUT-1 gibi glukoz taşıyıcılarının tümör hücrelerinde up-regüle olduğu ve glikolitik yolağın baskın hale gelmesinin RAS, MYC gibi onkogenlerin aktivasyonu ve TP53 gibi tümör baskılayıcı genlerin mutasyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (68). Dolayısıyla, PI3K/Akt yolağı ve tirozin kinaz reseptörleri gibi hücre içi sinyal iletimi yolları kanser hücresindeki artmış glukoz alımı ve glikolizde rol oynayan yollarlardır. Ayrıca, tümörlerde hipoksi ile indüklenen transkripsiyon faktörlerinin eksprese edildiği de göz önüne alınırsa HIF1- α gibi transkripsiyon faktörlerinin glikolizi artırıcı etkisinin de tümörde glikoliz up-regülasyonunda rol oynadığı akıld tutulmalıdır (69).

Kanser hücrelerinin bir kısmının temel enerji mekanizması bileşeni olarak laktatı kullandığı ve laktat, Krebs döngüsünün bir ürünü olduğundan glikolitik yolu kullanan tümör hücreleriyle onların ürettiği laktatı kullanan tümör hücrelerinin simbiyotik bir yaşam sürdürdüğü düşünülmektedir (10).

Tümör metabolizmasında onkometabolitler de önemli rol oynamaktadır. Özellikle izositrat dehidrogenaz (IDH) gibi Krebs siklusunda görevli enzim mutasyonlarının neoplastik hücre metabolizmasına katkısı oldukça ilgi çekicidir. Mutant IDH, 2-hidroksiglutarat (2-HG) üreterek bir onkoprotein gibi davranır. 2-HG, bugün için onkometabolitlerin prototipi olarak düşünülmektedir. Peki bu dönüşüm nasıl gerçekleşir? IDH genindeki mutasyonlar, enzimin aktif bölgesindeki rezidülerinin yerine spesifik aminoasitlerin geçişine neden olur. Bunun sonucunda mutasyona uğramış protein, izositrat dehidrogenaz şeklinde işlev görme yetisini kaybeder ve 2-HG üretimini kolaylaştıran bir enzimatik aktivite kazanır. 2-HG, daha sonra, TET2'yi de içeren TET ailesi üyesi enzimlerini inhibe eder. TET2, DNA metilasyonunu düzenleyen pek çok faktörden birisidir. TET2 aktivitesinin kaybı, anormal DNA metilasyon paternlerine neden olur. IDH mutasyonlarının varlığı özellikle glial tümörlerin sınıflamasında ve prognoz

tafininde önemli belirleyicilerden biri haline gelmiştir (70). Son dönemde IDH mutasyonlarının kolanjiyokarsinom patogenezinde de önemli rol oynadığı keşfedilmiştir (71).

8. Tümör Çevresi İnflamasyon/Tümör Mikroçevresi

Tümör mikroçevresi fibroblastlar, endotel hücreleri, perisitler, lökositler ve ESM'den oluşmaktadır ve tümör stromasının kanser oluşumu, gelişimi ve yayılmasında önemli rolü olduğu bilinmektedir (72). Tümör stromasındaki fibroblastlar kanser ilişkili fibroblast (KIF) olarak bilinmektedir ve perisitlerle birlikte stromal hücreler arasında karsinogenezle en çok ilişkili olduğu düşünülen hücre grubudur. KIF'ler büyüme faktörleri, hormon ve sitokinler salgılayarak tümör hücre çoğalmasını doğrudan uyarırlar. Hepatosit büyüme faktörü (HGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ile CXCL12 ve IL-6 gibi sitokinlerin farklı tümör tiplerinde stromal fibroblastlar tarafından yüksek düzeyde eksprese edildiği gösterilmiştir (27). Beklendiği gibi; KIF'lerin proanjyogenik etkileri de bulunmaktadır. Fukumura ve ark., farelerde kendiliğinden gelişen meme karsinomları ya da solid tümör implantasyonu sonrası stromal hücrelerde VEGF promotör aktivitesinin hızla arttığını gözlemlemişlerdir (73). KIF'ler ayrıca invazyon ve metastaz sürecine TGF- β ve HGF eksprese ederek EMT'yi indüklemeye yoluyla katkıda bulunurlar (27).

Perisitler endotel hücre işlevinin önemli düzenleyicilerindedir. Tümöral damarlarda perisitlerin oluşumu PDGF reseptör- β sinyalinin varlığına bağlıdır (72). Fare B16 melanoma hücrelerinde ektopik PDGF- β ekspresyonunun tümör büyümesini hızlandırdığı bildirilmekle birlikte (74); kolorektal ya da pankreatik karsinoma hücrelerine PDGF- β verildiğinde perisit aracılı büyüme inhibisyonu olması (75) PDGF- β düzeyinin ve kaynağının perisitler üzerinde farklı etki oluşturabileceğini düşündürmektedir. İlginç olarak; perisitlerin metastaza karşı koruyucu bir bariyer olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (76). Damar ağı perisitler fakir tümörlerde, dolaşıma kanser hücresi geçişinin daha kolay olduğu öne sürülmektedir (77, 78). Yakın dönemde yapılan bir çalışmada; perisit-fibroblast dönüşümünün tümör gelişimini ve metastazı uyardığı bildirilmiştir (79). Ancak bu hipotezlerin kanıtlanabilmesi için perisitlerin anjiyogenez ve metastazdaki rolü konusunda daha ileri çalışmalara gereksinim vardır.

İnvaziv tümörler buldukları alanda kronik yangıyı tetiklerler. Bu yanıtın şiddeti her tümörde farklılık göstermektedir. Başlangıçta, tümör çevresi yangısal hücre infiltrasyonunun tümörü ortadan kaldırmak üzere konak tarafından geliştirilen bir yanıt olduğu düşünülmekteydi. Ancak son 15 yılda yapılan çalışmalar bu tümör çevresi hücrelerin, tümörigenezi indükleyen sitokinler ve büyüme faktörleri salgıladıklarını ortaya koymuştur (80-83); ESM'yi parçalayan enzimler salarak anjiyogenez ve invazyonu uyarmaktadır (84). Tümör çevresi yangının gelişiminde çeşitli sitokinlerin aşırı ekspresyonunun rol oynayabileceği öne sürülmektedir. IL-23'ü aşırı eksprese

eden bir hücre serisinde yapılan bir çalışmada IL-23'ün, anjiyogenez, tümörde makrofaj ve nötrofil infiltrasyonu ve bu hücrelerden immün baskılayıcı sitokin salınımı gibi protümörül süreçleri stimüle ettiği; CD4⁺ T hücre ve CD8⁺ T hücre aracılı antitümörül immün yanıtı baskıladığı saptanmıştır (85).

Son dönemde ilgi çeken konulardan biri de tümör ve çevresinde nötrofil infiltrasyonudur. Aktive nötrofillerin tümör hücrelerini öldürdüğü gösterilmiş olmakla birlikte; nötrofil aktivasyonunun, tromboz ve anjiyogenez stimülasyonu, stromal yeniden şekillenme, T hücre bağımlı antitümörül immünitesinin baskılanması gibi yollarla tümör progresyonu ve metastaz gelişimini desteklediğine dair kanıtlar da bulunmaktadır ve nötrofil alt tipine göre pro-tümörül ya da anti-tümörül etki gösterdikleri iddia edilmektedir (86).

Tümörü infiltre eden lenfositler (TILs) solid tümörlerde görece sık görülen bir bulgudur. TILs T ve B lenfositler ve doğal öldürücü hücrelerden oluşan heterojen bir hücre popülasyonudur; bu nedenle de bu hücrelerin etki düzeylerine bağlı olarak immün sistemi uyarıcı ya da baskılayıcı etkiler gösterebilmektedirler. TILs'i oluşturan hücrelerin tiplerinin belirlenmesinin immünoterapi yararının öngörülebilmesi için önemli olduğu iddia edilmektedir (87) ancak bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

9. İmmün Yanıttan Kaçış

Tümör hücreleri, karsinogenezde etkili faktörlere bağlı olarak farklı tümörül antijenler (örn. Mutant onkogenler, tümör baskılayıcı genler, aşırı eksprese edilen proteinler, viral onkojenik antijenler, onkofetal antijenler vb.) sentezlemekte ve bu antijenler konak bağışıklık sistemi tarafından tanınarak yok edilebilmektedir. Bu antitümörül aktivite ağırlıklı olarak hücre-aracılı immünite ile düzenlenir; yani hücre yüzeyindeki tümör antijenleri MHC Sınıf I moleküller tarafından CD8⁺ sitotoksik T hücrelere sunulur.

İmmün sistemi baskılanmış hastalar (doğumsal ya da kazanılmış immün yetmezlikli bireyler) kanser gelişimi için, özellikle de onkojenik DNA viruslarının (örn. HPV, EBV vb.) neden olduğu kanserlerin gelişimi için, artmış risk altındadır (88, 89). İmmünkompetan bireylerde ise tümörler farklı mekanizmalarla konak bağışıklık yanıtından kaçabilmektedir.

Tümör hücre popülasyonunda antijen-negatif ve dolayısıyla da immün sistemi uyarmayan hücrelerin seçildiği düşünülmektedir (90, 91). Tümör hücreleri MHC moleküllerini eksprese etmeyebilir ve böylece sitotoksik T hücre yanıtından kaçmış olurlar (92). Bir diğer yol tümör tarafından immün sistemi baskılayıcı moleküller salınmasıdır. IL-10, PGE2 gibi triptofandan sentezlenen metabolitler ile T hücrelerin tümör yatağına göçünü inhibe edebilen VEGF gibi tümör tarafından salgılanan pek çok molekülün konak immün yanıtını baskıladığı düşünülmektedir (17).

Son dönemde klinik önem kazanan bir diğer immün yanıttan kaçış mekanizması tümör hücrelerinin immün

yanıtta kontrol noktası olarak görülen normal yollarını inhibe ettiği teorisine dayanmaktadır. Tıp kategorisinde 2018 Nobel Ödülü negatif immün regülasyonun inhibisyonu yoluyla kanser terapisi keşifleri nedeniyle James P. Allison ve Tasuku Honjo'ya verilmiştir (93). T hücresine antijen sunulduğunda yüzeyindeki CD28 molekülü antijen sunan hücre üzerindeki B7 molekülüne bağlanır ve aktivasyon gerçekleşir. Aktive T hücrelerinde inaktive haldeyken hücre içinde bulunan ve B7'ye bağlanarak etki gösteren CTLA-4 ("cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4") molekülü hücre yüzeyine taşınır. CTLA-4'ün temel etkisi T hücre aktivasyonunun durdurulması/ T hücre inhibisyonudur. Aktive T hücreleri bu fren sistemi sayesinde görevlerini yerine getirdikten sonra tekrar dinlenme haline dönerler. Neoplastik hücreler ise dendritik hücre gibi antijen sunan hücrelerin ekspresyonunu inhibe edebilmekte ve sonuç olarak antijen sunan hücreler, uyarıcı CD28 reseptörüne bağlanmak yerine efektör T hücre yüzeyindeki inhibitör reseptör CTLA-4'ü aktive etmektedir (17, 94). Allison ve çalışma ark. CTLA-4 adlı bir T hücre yüzey molekülüne karşı geliştirilen antikörlerin farelerde immün yanıtı tetikleyerek tümör tedavisi sağladığını göstermişlerdir (95). Bu keşfin sonucunda da CTLA-4'ü hedef alan anti-CTLA-4 tedavi seçenekleri geliştirilmiştir. Tasuko Honjo ve ark. ise bilim dünyasını PD-1 (CD279) molekülü ile tanıştırmışlardır (96). Kanser hücreleri aynı zamanda efektör T hücre yüzeyindeki PD-1 programmed death-1(PD-1) reseptörünü aktive eden PD-L1 ve PD-L2'nin ekspresyonunu artırabilir. PD-L1 ("Programmed death ligand 1") PD-1 için ana ligandır ve fizyolojik koşullarda PD-1/PD-L1 etkileşimi doku yıkımı ve otoimmüniteye neden olabilecek aşırı immün hücre aktivitesini engellemek için gerekli immün tolerans gelişiminde gereklidir (97). PD-L1 ekspresyonu pek çok tümör tarafından kullanılan bir immün yanıttan kaçış mekanizmasıdır ve genellikle kötü prognoz ile ilişkilidir. Son yıllarda kullanılmaya başlanan anti-PD-1/PDL1 ilaçlar metastatik akciğer kanseri, melanom başta olmak üzere pek çok malignitede tümör regresyonunu sağlamaktadır (97). Anti PD-1/PD-L1 ve anti-CTLA-4 tedaviler "immün kontrol noktası blokajı" olarak da isimlendirilmektedir.

10. Genetik İstabilite ve Mutasyon

Özellikle DNA onarımı ile ilişkili genler ve süreçler başta olmak üzere bazı genetik değişiklikler klonal gelişimi ve malign transformasyonu görece olarak daha fazla kolaylaştırmaktadır. Kimya Dalında 2015 Nobel Ödülünü paylaşan Aziz Sancar, Tomas Lindahl ve Paul Modrich' in DNA tamiri enzimatik mekanizmaları ile ilgili çalışmalarını temel ve çığır açan keşiflerdir (98). Lindahl, DNA'nın farklı fizyolojik koşullar altında bozulmaya maruz kalan anstabil bir molekül olduğunu saptamış ve tamamen yeni bir DNA glikozilaz grubunu tanımlayarak baz eksizyon onarımındaki rolünü göstermiştir (99, 100). Modrich genetik gözlemler (101) ile "mismatch repair" (MMR; yanlış eşleşme tamiri) alanlarını tanımlamıştır. Çağımızın önemli Türk bilim insanlarından biri olan Aziz

Sancar ise özellikle ultraviyole ışın maruziyetine bağlı olarak DNA'da oluşan hasarların nükleotid eksizyon onarımı yoluyla tamirinin moleküler mekanizmalarını inceleyen çalışmalar yapmış (102-104) ve yeni bir DNA onarım enzimini keşfetmiştir (105).

DNA onarım genleri, DNA hasarının fark edilmesi ve onarımı, mutajenlerin DNA'ya hasar vermeden inaktive edilmesi gibi süreçlerden sorumludur (106, 107). DNA onarım genlerinde kalıtsal mutasyonlar taşıyan bireyler kanser gelişimi için artmış risk altında olduğu gibi bazı sporadik kanserlerde de DNA onarım mekanizmalarında defektler görülebilmekte ve genomik instabilite gelişebilmektedir. Bu genlerdeki değişiklikler dışında; telomerik DNA'nın kaybı da genomik instabilite yaratarak kanser gelişimine neden olabilmektedir (108).

Hereditör nonpolipozis koli (HNPCC; Lynch Sendromu) sendromlu bireylerde DNA "mismatch repair" (MMR; yanlış eşleşme tamiri) genlerinde kayıp sonucu mikrosatellit instabilite ortaya çıkmakta ve bu da kolon kanserine yol açmaktadır (109, 110). HNPCC başlıca çekum ve proksimal kolonu tutan ailesel kolon karsinomu ile karakterizedir. DNA'nın bir zinciri tamir edilirken, mismatch tamir genlerinin ürünleri, "imla düzenleyicisi" gibi davranırlar. Örneğin, A ile T'nin eşleşmesi yerine, G ile T'nin yanlış bir eşleşmesi varsa bu hatayı düzeltirler. Bu hatalar düzeltilemezse buna benzer yanlış eşleşmeler ("mismatch") giderek artan oranda genomda birikir. MMR genlerde defekt olan hastaların genomunda saptanan karakteristik bir bulgu, "mikrosatellit instabilitesidir" (MSI). Mikrosatellitler genomda bulunan 1-6 nükleotidlik ve uzunluğu sabit tekrarlardır fakat HNPCC olgularında bu tekrarlar instabildir ve bireyin normal hücrelerinde bulunmayan alleller yaratırlar. *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* ve *PMS2* genlerindeki germline mutasyonlar sonucu HNPCC ve dolayısıyla da kolon başta olmak üzere farklı organlarda maligniteler ortaya çıkar.

Kseroderma pigmentosum (KP) nükleotid tamir mekanizmasındaki defektler sonucu gelişen bir diğer kalıtsal hastalıktır. Güneşe maruz kalan ciltte artmış kanser gelişme riski ile ilişkilidir (111). Güneş ışığında bulunan ultraviyole (UV) ışınları, pirimidin rezidülerinin çapraz bağlanmasına neden olur. Bu şekildeki DNA hasarı, nükleotid eksizyon tamir sistemi ile tamir edilir. Nükleotid eksizyon tamirinden sorumlu genlerin mutasyonu durumunda KP ortaya çıkabilir (112). Pirimidin dimerleri onarılamadığı için ultraviyole ışık (güneş ışığı) maruziyeti sonucu bu bireylerde deri kanserleri görülmektedir.

Benzer şekilde; homolog rekombinasyon tamir genlerindeki mutasyonlar da Bloom Sendromu, Ataksi-telenjiektazi (AT), Fanconi anemisi gibi otozomal resesif geçişli kalıtsal hastalıklara neden olarak iyonizan radyasyon, nitrojen mustard gibi DNA'ya hasar veren ajanlara/faktörlere karşı hipersensitivite ve bu nedenle tümör oluşumuna yatkınlık yaratabilir (113).

Bu hastalıkların fenotipi komplekstir ve kansere eğilimi artırmaları yanı sıra çeşitli başka durumlar ile de ilişkilidirler. Örneğin AT'de nöral semptomlar, Fanconi anemisinde anemi, Bloom Sendromunda gelişimsel defektler görülebilir. AT'de mutasyona uğrayan gen *ATM* genidir. *ATM* geni bir protein kinazı kodlar. Bu protein kinaz, iyonize radyasyonun neden olduğu DNA hasarını algılaması bakımından önemlidir.

Homolog rekombinasyon tamir genlerinden olan *BRCA1* ve *BRCA2*'nin ailesel meme kanseri olgularında mutant olduğu bilinmektedir. *BRCA1* ve *BRCA2* mutasyonları ailesel meme karsinomlarının %25'inde görülürken inaktivasyonları sporadik meme karsinomlarında nadiren gösterilebilir (17). *BRCA1* mutant kadınlarda ovaryan kanser için de yatkınlık söz konusudur (114). *BRCA2* mutant bireylerde meme, over, prostat, pankreas, safra yolları ve mide tümörleri için risk artışı mevcuttur (115). *BRCA* mutasyonunun kromozomal kırılmalar, anöploidi ve kırılma-birleşme-köprü sikluslarına neden olarak karsinogenezde rol oynadığı düşünülmektedir (17).

11. Kanserde Etkili Epigenetik Mekanizmalar

Epigenetik değişiklikler; DNA sekansında herhangi bir değişiklik olmadan, gen ekspresyonunda meydana gelen kalıtılabilir değişikliklerdir. Birebir aynı DNA sekansları içeren monozigotik ikizlerde ve klonlanmış hayvanlarda görülen fenotipik farklılıkların bir kısmından epigenetik mekanizmalar sorumludur (116). Epigenetik mekanizmalar, DNA modifikasyonları ve nükleozomların modifikasyonu ya da yeniden düzenlenimi aracılığıyla kromatinin yerel (kısmen) ya da tamamen transkripsiyonel düzenlenmesini değiştiren mekanizmalardır. Epigenetik programlama doku ve hücreye özgü işlevlerin sağlanmasında çok önemlidir. Ayrışma süreçlerinin büyük kısmı epigenetik mekanizmalar ile sağlanır. Somatik hücrelerde genlerin büyük kısmında transkripsiyonel durum epigenetik olarak sabitlenmiştir. Hücre siklusu kontrol noktası genleri ve büyüme faktörleri ya da hücre-hücre teması gibi dış uyarılardan etkilenen diğer genler ise uyarıya hızlı yanıt verilmesini sağlayan ve histon modifikasyonları ile sağlanan dinamik ve dengeli bir safhada tutulur. Epigenetik dengede bozulma gen ekspresyonunda değişikliklere yol açarak hücrenel transformasyona ve malignite gelişimine sebep olur. Kanser gelişiminde hücre büyümesi, ayrışması, hücre döngüsü denetimi, DNA onarımı, anjiyogenez, migrasyon, immün sistemden kaçış gibi pek çok süreçte epigenetik mekanizmaların da rolü bulunmaktadır (117).

Önceleri karsinogenezde epigenetik ve genetik mekanizmaların birbirinden bağımsız olduğu düşünülse de ileri araştırmalar genom ve epigenom arasında etkileşimler olduğunu ve birinin diğerinde değişikliklere sebep olabildiğini göstermiştir. Birçok insan kanserinde epigenomu kontrol eden genlerde inaktive edici mutasyonlar saptanmış, öte yandan epigenetik süreçler ile nokta mutasyonların oluşabildiği ve DNA onarım işlevlerini bozabildiği gösterilmiştir. Kanserde etkili epigenetik

mekanizmalar, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, nükleozom yeniden düzenlenmesi ve kodlama yapmayan düzenleyici RNA'lardır. Tümör başlangıcı ve ilerlemesi sırasında, epigenomda, genom boyunca DNA metilasyon kaybı (hipometilasyon), CpG adalarının promotor metilasyonunda artış, histon modifikasyon profillerinde değişiklik gibi çok sayıda değişiklik meydana gelir (118). Sporadik kanserlerde DNA onarım genleri ya da hücre siklusu genlerinde epigenetik değişiklikler, bu genlerin germline mutasyonlarına nazaran oldukça sık görülmektedir (119, 120). Kanserde *RB*, *BRCA1/2* ve *PTEN* gibi hücre siklusu ve DNA tamirini kontrol eden genlerin hipermetilasyona uğradığı bilinmektedir. Tümör baskılayıcı genlerin promotor hipermetilasyon ile susturulması kanserlerde sıklıkla görülmektedir (118). Örneğin; *CDKN2A* lokusunda hipermetilasyon olduğunda *p14^{ARF}* ve *p16^{INK4a}* tümör baskılayıcı genleri susturularak hücrede p53 ve RB aktivitesi de baskılanmış olur ve bu metilasyon farklı kanser tiplerinde gösterilmiştir (17). Sporadik kolon kanserlerinin %15'i *MLH1* geninde promotor hipermetilasyon sonucu oluşmaktadır (121). Bunun yanı sıra; meme kanserinde *BRCA1* promotor hipermetilasyonu yoluyla da *BRCA1* gen inaktivasyonu olabileceği bildirilmiştir (122). Genomdaki birçok bölgede hipometilasyon/hipermetilasyon alanlarının oluştuğu metilasyon instabilitesi bazı kanserlerde görülebilmektedir. Wnt yolağındaki ve kromatin yeniden modelleme genlerindeki mutasyonlar, hücrelerde metilasyon instabilitesine neden olmaktadır (123).

Histon modifikasyonunun mekanizması biraz daha karmaşık olup metilasyon, asetilasyon ya da fosforilasyon gibi kimyasal reaksiyonlarla ortaya çıkmaktadır (17). Asetilasyon ve metilasyon, gen transkripsiyonu, DNA tamiri, DNA replikasyonu ve kromozomların organizasyonu gibi nükleer olaylara direkt olarak etkilidir. Histon asetilasyonu genel olarak transkripsiyonu aktive edici etkiye sahipken, histon metilasyonunun etkisi amino asitin tipine ve lokalizasyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterir (116). Örneğin; bazı diffüz büyük B hücreli lenfoma olgularında *CREBBP/EP300* geninde histon asetilasyonu görülürken folliküler lenfomalarda sıklıkla *MLL2* geninde histon metilasyonu görüldüğü bildirilmiştir (17).

Kodlama yapmayan RNA'ların iki ana grubu bulunmaktadır: küçük kodlama yapmayan RNA'lar ve uzun kodlanmayan RNA'lar (lncRNA) (124). Küçük kodlama yapmayan RNA'ların bir tipi olan miRNA'lar mRNA'ların translasyonu ya da stabilitesini kontrol ederek epigenetik düzenlemede anahtar rol oynamaktadır. miRNA'lar onkogenik, tümör baskılayıcı ya da bağımsız miRNA'lar olarak sınıflandırılmaktadır. Kanserlerde miR-155 ve miR-21 gibi onkogenik miRNA'ların aşırı ekspresyonu olduğu, miR-146 ve miR-15-16 gibi tümör baskılayıcı miRNA'ların ise delesyona uğradığı bildirilmektedir (118).

Uzun kodlanmayan RNA'lar (lncRNA) 200 nükleotidden daha uzun, protein kodlamayan transkriptlerdir. Transkripsiyonun düzenlenmesi, mRNA işlemlerinin modülasyonu, posttranskripsiyonel kontrol ve protein aktivitesi gibi görevleri bulunmaktadır. MiRNA'lara benzer şekilde tümör baskılayıcı ya da tümörigenezi uyarıcı etki gösterebilmektedirler. *LED*, *MEG3*, *linc-p21* başlıca tümör baskılayıcı lncRNA türleri olup çoğunluğu p53 üzerinden etkilidir. Tümörigenezi uyarıcı lncRNA'ların başında *MALAT1* ve *HOTAIR* gelmektedir (125).

SONUÇ

Burada anlatılmış olan karsinogenez basamakları, tümör patogenezinin anlaşılması yanı sıra bu moleküler süreçleri hedef alacak tedavilerin geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır. Kanser dinamik bir süreç olduğundan bu mekanizmaların her birinin her zaman aynı şekilde etkili olması mümkün olmamakla birlikte; şimdiden bu basamaklara yönelik hedef tedaviler (örn. anjiyogenez inhibitörleri, büyüme inhibitörleri, immün modülatör tedaviler vb.) ile olumlu sonuç elde edilen pek çok hasta grubu bulunmaktadır. "Kanserin temel özellikleri" tanımlaması gelecekte farklılık gösterebilecek olsa bile şu an için belirli bir kategorizasyon çerçevesi sağlayarak moleküler karsinogenez çalışmalarında büyük kolaylık sağlamaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu derlemenin yazımı sürecinde bizlere yol gösterdikleri ve değerli katkılarda buldukları için Prof. Dr. Sülen SARIOĞLU ve Prof. Dr. Kutsal YÖRÜKOĞLU'na teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAKLAR

1. <https://www.cancer.org/cancer/cancer-basics/history-of-cancer.html>: The History of Cancer. Erişim tarihi: 10 Aralık 2018.
2. Sudhakar A: History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods. *J Cancer Sci Ther* 2009, 1(2):1-4. PMID: 20740081. DOI: 10.4172/1948-5956.100000e2.
3. Berenblum I, Shubik P: An experimental study of the initiating state of carcinogenesis, and a re-examination of the somatic cell mutation theory of cancer. *Br J Cancer* 1949, 3(1):109-118. PMID: 18128325.
4. Armitage P, Doll R: The age distribution of cancer and a multistage theory of carcinogenesis. *Br J Cancer* 1954, 8(1):1-12. PMID: 13172380.
5. Moolgavkar SH: The multistage theory of carcinogenesis and the age distribution of cancer in man. *J Natl Cancer Inst* 1978, 61(1):49-52. PMID: 276637.
6. Day NE, Brown CC: Multistage models and primary prevention of cancer. *J Natl Cancer Inst* 1980, 64(4):977-989. PMID: 6929006.
7. Sever R, Brugge JS: Signal transduction in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015, 5(4). PMID: 25833940. DOI: 10.1101/cshperspect.a006098.

8. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Jr., Kinzler KW: Cancer genome landscapes. *Science* 2013, 339(6127):1546-1558. PMID: 23539594. DOI: 10.1126/science.1235122.
9. Hanahan D, Weinberg RA: The hallmarks of cancer. *Cell* 2000, 100(1):57-70. PMID: 10647931.
10. Hanahan D, Weinberg RA: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011, 144(5):646-674. PMID: 21376230. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
11. Schulz W: *Molecular Biology of Human Cancers: An Advanced Student's Textbook*. Springer Netherlands 2007. DOI: 10.1007/978-1-4020-3186-1.
12. Sanchez-Vega F, Mina M, Armenia J, Chatila WK, Luna A, La KC, Dimitriadoy S, Liu DL, Kantheti HS, Saghaforinia S, Chakravarty D, Daian F, Gao Q, Bailey MH, Liang WW, Foltz SM, Shmulevich I, Ding L, Heins Z, Ochoa A, Gross B, Gao J, Zhang H, Kundra R, Kandoth C, Bahceci I, Dervishi L, Dogrusoz U, Zhou W, Shen H, Laird PW, Way GP, Greene CS, Liang H, et al: Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell* 2018, 173(2):321-337.e310. PMID: 29625050. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.035.
13. Chang F, Lee JT, Navolanic PM, Steelman LS, Shelton JG, Blalock WL, Franklin RA, McCubrey JA: Involvement of PI3K/Akt pathway in cell cycle progression, apoptosis, and neoplastic transformation: a target for cancer chemotherapy. *Leukemia* 2003, 17(3):590-603. PMID: 12646949. DOI: 10.1038/sj.leu.2402824.
14. Goldsmith ZG, Dhanasekaran DN: G protein regulation of MAPK networks. *Oncogene* 2007, 26(22):3122-3142. PMID: 17496911. DOI: 10.1038/sj.onc.1210407.
15. Cross SS, Underwood JCE: *Underwood's pathology : a clinical approach / edited by Simon S. Cross ; illustrations and chapter icons by Robert Britton and Antbits Ltd. Edinburgh : Churchill Livingstone 2013(6th ed):183-219.*
16. Fedi P, Tronick SR, Aaronson SA: Growth Factors. In *Cancer Medicine*, JF Hollanf, RC Bast, DL Morton, E Frei, DW Kufe, and RR Weichselbaum, eds 1997, Baltimore, MD: Williams and Wilkins:pp. 41-64.
17. Kumar V, Abbas AE, Aster JC: *Robbins and Cotran pathologic basis of disease / [edited by] Vinay Kumar, Abul K. Abbas, Jon C. Aster ; with illustrations by James A. Perkins. Philadelphia, PA : Elsevier/Saunders 2015:266-340.*
18. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA: Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004, 350(21):2129-2139. PMID: 15118073. DOI: 10.1056/NEJMoa040938.
19. Martelli MP, Sozzi G, Hernandez L, Pettirossi V, Navarro A, Conte D, Gasparini P, Perrone F, Modena P, Pastorino U, Carbone A, Fabbri A, Sidoni A, Nakamura S, Gambacorta M, Fernandez PL, Ramirez J, Chan JK, Grigioni WF, Campo E, Pileri SA, Falini B: EML4-ALK rearrangement in non-small cell lung cancer and non-tumor lung tissues. *Am J Pathol* 2009, 174(2):661-670. PMID: 19147828. DOI: 10.2353/ajpath.2009.080755.
20. van de Vijver MJ, Peterse JL, Mooi WJ, Wisman P, Lomans J, Dalesio O, Nusse R: Neu-protein overexpression in breast cancer. Association with comedo-type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. *N Engl J Med* 1988, 319(19):1239-1245. PMID: 2903446. DOI: 10.1056/nejm198811103191902.
21. Medema RH, Bos JL: The role of p21ras in receptor tyrosine kinase signaling. *Crit Rev Oncog* 1993, 4(6):615-661. PMID: 8286433.
22. Diaz-Diaz C, Fernandez de Manuel L, Jimenez-Carretero D, Montoya MC, Claveria C, Torres M: Pluripotency Surveillance by Myc-Driven Competitive Elimination of Differentiating Cells. *Dev Cell* 2017, 42(6):585-599.e584. PMID: 28919206. DOI: 10.1016/j.devcel.2017.08.011.
23. Scognamiglio R, Cabezas-Wallscheid N, Thier MC, Altamura S, Reyes A, Prendergast AM, Baumgartner D, Carnevalli LS, Atzberger A, Haas S, von Paleske L, Boroviak T, Worsdorfer P, Essers MA, Klotz U, Eisenman RN, Edenhofer F, Bertone P, Huber W, van der Hoeven F, Smith A, Trumpp A: Myc Depletion Induces a Pluripotent Dormant State Mimicking Diapause. *Cell* 2016, 164(4):668-680. PMID: 26871632. DOI: 10.1016/j.cell.2015.12.033.
24. Chen Y, McGee J, Chen X, Doman TN, Gong X, Zhang Y, Hamm N, Ma X, Higgs RE, Bhagwat SV, Buchanan S, Peng SB, Staschke KA, Yadav V, Yue Y, Kouros-Mehr H: Identification of druggable cancer driver genes amplified across TCGA datasets. *PLoS One* 2014, 9(5):e98293. PMID: 24874471. DOI: 10.1371/journal.pone.0098293.
25. Olsen RR, Otero JH, Garcia-Lopez J, Wallace K, Finkelstein D, Rehg JE, Yin Z, Wang YD, Freeman KW: MYCN induces neuroblastoma in primary neural crest cells. *Oncogene* 2017, 36(35):5075-5082. PMID: 28459463. DOI: 10.1038/onc.2017.128.
26. Cheng N, Chytil A, Shyr Y, Joly A, Moses HL: Transforming growth factor-beta signaling-deficient fibroblasts enhance hepatocyte growth factor signaling in mammary carcinoma cells to promote scattering and invasion. *Mol Cancer Res* 2008, 6(10):1521-1533. PMID: 18922968. DOI: 10.1158/1541-7786.Mcr-07-2203.
27. Bhowmick NA, Neilson EG, Moses HL: Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature* 2004, 432(7015):332-337. PMID: 15549095. DOI: 10.1038/nature03096.
28. Chandarlapaty S: Negative feedback and adaptive resistance to the targeted therapy of cancer. *Cancer Discov* 2012, 2(4):311-319. PMID: 22576208. DOI: 10.1158/2159-8290.Cd-12-0018.
29. O'Reilly KE, Rojo F, She QB, Solit D, Mills GB, Smith D, Lane H, Hofmann F, Hicklin DJ, Ludwig DL, Baselga J, Rosen N: mTOR inhibition induces upstream receptor tyrosine kinase signaling and activates Akt. *Cancer Res* 2006, 66(3):1500-1508. PMID: 16452206. DOI: 10.1158/0008-5472.Can-05-2925.
30. Nordling CO: A new theory on cancer-inducing mechanism. *Br J Cancer* 1953, 7(1):68-72. PMID: 13051507.
31. Knudson AG, Jr.: Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971, 68(4):820-823. PMID: 5279523.

32. Fang Y, Tsao CC, Goodman BK, Furumai R, Tirado CA, Abraham RT, Wang XF: ATR functions as a gene dosage-dependent tumor suppressor on a mismatch repair-deficient background. *Embo j* 2004, 23(15):3164-3174. PMID: 15282542. DOI: 10.1038/sj.emboj.7600315.
33. Manning AL, Dyson NJ: RB: mitotic implications of a tumour suppressor. *Nat Rev Cancer* 2012, 12(3):220-226. PMID: 22318235. DOI: 10.1038/nrc3216.
34. Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E: The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989, 243(4893):934-937. PMID: 2537532.
35. Li FP, Fraumeni JF, Jr.: Soft-tissue sarcomas, breast cancer, and other neoplasms. A familial syndrome? *Ann Intern Med* 1969, 71(4):747-752. PMID: 5360287.
36. Goh AM, Coffill CR, Lane DP: The role of mutant p53 in human cancer. *J Pathol* 2011, 223(2):116-126. PMID: 21125670. DOI: 10.1002/path.2784.
37. Joerger AC, Fersht AR: The p53 Pathway: Origins, Inactivation in Cancer, and Emerging Therapeutic Approaches. *Annu Rev Biochem* 2016, 85:375-404. PMID: 27145840. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060815-014710.
38. Werness BA, Levine AJ, Howley PM: Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990, 248(4951):76-79. PMID: 2157286.
39. Curto M, Cole BK, Lallemand D, Liu CH, McClatchey AI: Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. *J Cell Biol* 2007, 177(5):893-903. PMID: 17548515. DOI: 10.1083/jcb.200703010.
40. Partanen JI, Nieminen AI, Klefstrom J: 3D view to tumor suppression: Lkb1, polarity and the arrest of oncogenic c-Myc. *Cell Cycle* 2009, 8(5):716-724. PMID: 19221484. DOI: 10.4161/cc.8.5.7786.
41. Hezel AF, Bardeesy N: LKB1; linking cell structure and tumor suppression. *Oncogene* 2008, 27(55):6908-6919. PMID: 19029933. DOI: 10.1038/onc.2008.342.
42. Rust C, Gores GJ: Apoptosis and liver disease. *Am J Med* 2000, 108(7):567-574. PMID: 10806286.
43. Cavallo F, De Giovanni C, Nanni P, Forni G, Lollini PL: 2011: the immune hallmarks of cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2011, 60(3):319-326. PMID: 21267721. DOI: 10.1007/s00262-010-0968-0.
44. Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Kang TH, Reardon JT, Lee JH, Ozturk N: Circadian clock control of the cellular response to DNA damage. *FEBS Lett* 2010, 584(12):2618-2625. PMID: 20227409. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.03.017.
45. Susnow N, Zeng L, Margineantu D, Hockenbery DM: Bcl-2 family proteins as regulators of oxidative stress. *Semin Cancer Biol* 2009, 19(1):42-49. PMID: 19138742. DOI: 10.1016/j.semcancer.2008.12.002.
46. Walker JA, Quirke P: Viewing apoptosis through a 'TUNEL'. *J Pathol* 2001, 195(3):275-276. PMID: 11673822. DOI: 10.1002/path.979.
47. Tsujimoto Y: Role of Bcl-2 family proteins in apoptosis: apoptosomes or mitochondria? *Genes Cells* 1998, 3(11):697-707. PMID: 9990505.
48. Villa-Morales M, Fernandez-Piqueras J: Targeting the Fas/FasL signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012, 16(1):85-101. PMID: 22239437. DOI: 10.1517/14728222.2011.628937.
49. Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schroter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J: Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 1997, 388(6638):190-195. PMID: 9217161. DOI: 10.1038/40657.
50. Strasser A, Harris AW, Bath ML, Cory S: Novel primitive lymphoid tumours induced in transgenic mice by cooperation between myc and bcl-2. *Nature* 1990, 348(6299):331-333. PMID: 2250704. DOI: 10.1038/348331a0.
51. Lozy F, Karantzis V: Autophagy and cancer cell metabolism. *Semin Cell Dev Biol* 2012, 23(4):395-401. PMID: 22281437. DOI: 10.1016/j.semcdb.2012.01.005.
52. Harman D: Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956, 11(3):298-300. PMID: 13332224.
53. Hayflick L: Mortality and immortality at the cellular level. A review. *Biochemistry (Mosc)* 1997, 62(11):1180-1190. PMID: 9467840.
54. Gaspar TB, Sa A, Lopes JM, Sobrinho-Simoes M, Soares P, Vinagre J: Telomere Maintenance Mechanisms in Cancer. *Genes (Basel)* 2018, 9(5). PMID: 29751586. DOI: 10.3390/genes9050241.
55. Bryan TM, Englezou A, Dalla-Pozza L, Dunham MA, Reddel RR: Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nat Med* 1997, 3(11):1271-1274. PMID: 9359704.
56. Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG: Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012, 44(12):2144-2151. PMID: 22981632. DOI: 10.1016/j.biocel.2012.08.022.
57. Qian CN, Tan MH, Yang JP, Cao Y: Revisiting tumor angiogenesis: vessel co-option, vessel remodeling, and cancer cell-derived vasculature formation. *Chin J Cancer* 2016, 35:10. PMID: 26747273. DOI: 10.1186/s40880-015-0070-2.
58. Hanahan D, Folkman J: Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996, 86(3):353-364. PMID: 8756718.
59. Nagy JA, Chang SH, Shih SC, Dvorak AM, Dvorak HF: Heterogeneity of the tumor vasculature. *Semin Thromb Hemost* 2010, 36(3):321-331. PMID: 20490982. DOI: 10.1055/s-0030-1253454.
60. Baluk P, Hashizume H, McDonald DM: Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2005, 15(1):102-111. PMID: 15661540. DOI: 10.1016/j.gde.2004.12.005.
61. Skrypek N, Goossens S, De Smedt E, Vandamme N, Bercx G: Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Epigenetic Reprogramming Driving Cellular Plasticity. *Trends Genet* 2017, 33(12):943-959. PMID: 28919019. DOI: 10.1016/j.tig.2017.08.004.
62. Jin K, Li T, van Dam H, Zhou F, Zhang L: Molecular insights into tumour metastasis: tracing the dominant events. *J Pathol* 2017, 241(5):567-577. PMID: 28035672. DOI: 10.1002/path.4871.

63. Fouad YA, Aanei C: Revisiting the hallmarks of cancer. *Am J Cancer Res* 2017, 7(5):1016-1036. PMID: 28560055.
64. Peinado H, Zhang H, Matei IR, Costa-Silva B, Hoshino A, Rodrigues G, Psaila B, Kaplan RN, Bromberg JF, Kang Y, Bissell MJ, Cox TR, Giaccia AJ, Eler JT, Hiratsuka S, Ghajar CM, Lyden D: Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases. *Nat Rev Cancer* 2017, 17(5):302-317. PMID: 28303905. DOI: 10.1038/nrc.2017.6.
65. Albin A, Mirisola V, Pfeffer U: Metastasis signatures: genes regulating tumor-microenvironment interactions predict metastatic behavior. *Cancer Metastasis Rev* 2008, 27(1):75-83. PMID: 18046511. DOI: 10.1007/s10555-007-9111-x.
66. Warburg O, Wind F, Negelein E: THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *J Gen Physiol* 1927, 8(6):519-530. PMID: 19872213.
67. Pavlova NN, Thompson CB: The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metab* 2016, 23(1):27-47. PMID: 26771115. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.12.006.
68. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB: The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab* 2008, 7(1):11-20. PMID: 18177721. DOI: 10.1016/j.cmet.2007.10.002.
69. Semenza GL: HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 2010, 20(1):51-56. PMID: 19942427. DOI: 10.1016/j.gde.2009.10.009.
70. Eckel-Passow JE, Lachance DH, Molinaro AM, Walsh KM, Decker PA, Sicotte H, Pekmezci M, Rice T, Kosel ML, Smirnov IV, Sarkar G, Caron AA, Kollmeyer TM, Praska CE, Chada AR, Halder C, Hansen HM, McCoy LS, Bracci PM, Marshall R, et al: Glioma Groups Based on 1p/19q, IDH, and TERT Promoter Mutations in Tumors. *N Engl J Med* 2015, 372(26):2499-2508. PMID: 26061753. DOI: 10.1056/NEJMoa1407279.
71. Farshidfar F, Zheng S, Gingras MC, Newton Y, Shih J, Robertson AG, Hinoue T, Hoadley KA, Gibb EA, Roszik J, Covington KR, Wu CC, Shinbrot E, Stransky N, Hegde A, Yang JD, Reznik E, Sadeghi S, Pedamallu CS, Ojesina AI, Hess JM, Auman JT, Rhie SK, Bowlby R, Borad MJ, Zhu AX, Stuart JM, Sander C, Akbani R, Cherniack AD, Deshpande V, Mounajjed T, Foo WC, Torbenson MS, Kleiner DE, Laird PW, Wheeler DA, McRee AJ, Bathe OF, Andersen JB, Bardeesy N, Roberts LR, Kwong LN: Integrative Genomic Analysis of Cholangiocarcinoma Identifies Distinct IDH-Mutant Molecular Profiles. *Cell Rep* 2017, 18(11):2780-2794. PMID: 28297679. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.02.033.
72. Pietras K, Ostman A: Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. *Exp Cell Res* 2010, 316(8):1324-1331. PMID: 20211171. DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.045.
73. Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, Chen Y, Park EC, Lu N, Selig M, Nielsen G, Taksir T, Jain RK, Seed B: Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell* 1998, 94(6):715-725. PMID: 9753319.
74. Furuhashi M, Sjoblom T, Abramsson A, Ellingsen J, Micke P, Li H, Bergsten-Folestad E, Eriksson U, Heuchel R, Betsholtz C, Heldin CH, Ostman A: Platelet-derived growth factor production by B16 melanoma cells leads to increased pericyte abundance in tumors and an associated increase in tumor growth rate. *Cancer Res* 2004, 64(8):2725-2733. PMID: 15087386.
75. McCarty MF, Somcio RJ, Stoeltzing O, Wey J, Fan F, Liu W, Bucana C, Ellis LM: Overexpression of PDGF-BB decreases colorectal and pancreatic cancer growth by increasing tumor pericyte content. *J Clin Invest* 2007, 117(8):2114-2122. PMID: 17641778. DOI: 10.1172/jci31334.
76. Xian X, Hakansson J, Stahlberg A, Lindblom P, Betsholtz C, Gerhardt H, Semb H: Pericytes limit tumor cell metastasis. *J Clin Invest* 2006, 116(3):642-651. PMID: 16470244. DOI: 10.1172/jci25705.
77. Raza A, Franklin MJ, Dudek AZ: Pericytes and vessel maturation during tumor angiogenesis and metastasis. *Am J Hematol* 2010, 85(8):593-598. PMID: 20540157. DOI: 10.1002/ajh.21745.
78. Gerhardt H, Semb H: Pericytes: gatekeepers in tumour cell metastasis? *J Mol Med (Berl)* 2008, 86(2):135-144. PMID: 17891366. DOI: 10.1007/s00109-007-0258-2.
79. Hosaka K, Yang Y, Seki T, Fischer C, Dubey O, Fredlund E, Hartman J, Religa P, Morikawa H, Ishii Y, Sasahara M, Larsson O, Cossu G, Cao R, Lim S, Cao Y: Pericyte-fibroblast transition promotes tumor growth and metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016, 113(38):E5618-5627. PMID: 27608497. DOI: 10.1073/pnas.1608384113.
80. DeNardo DG, Andreu P, Coussens LM: Interactions between lymphocytes and myeloid cells regulate pro- versus anti-tumor immunity. *Cancer Metastasis Rev* 2010, 29(2):309-316. PMID: 20405169. DOI: 10.1007/s10555-010-9223-6.
81. Qian BZ, Pollard JW: Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell* 2010, 141(1):39-51. PMID: 20371344. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.014.
82. Joyce JA, Pollard JW: Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009, 9(4):239-252. PMID: 19279573. DOI: 10.1038/nrc2618.
83. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z: Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell* 2010, 141(1):52-67. PMID: 20371345. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.015.
84. Gocheva V, Wang HW, Gadea BB, Shree T, Hunter KE, Garfall AL, Berman T, Joyce JA: IL-4 induces cathepsin protease activity in tumor-associated macrophages to promote cancer growth and invasion. *Genes Dev* 2010, 24(3):241-255. PMID: 20080943. DOI: 10.1101/gad.1874010.
85. Nie W, Yu T, Sang Y, Gao X: Tumor-promoting effect of IL-23 in mammary cancer mediated by infiltration of M2 macrophages and neutrophils in tumor microenvironment. *Biochem Biophys Res Commun* 2017, 482(4):1400-1406. PMID: 27956175. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.12.048.
86. Singel KL, Segal BH: Neutrophils in the tumor microenvironment: trying to heal the wound that cannot heal. *Immunol Rev* 2016, 273(1):329-343. PMID: 27558344. DOI: 10.1111/immr.12459.
87. Zito Marino F, Ascierto PA, Rossi G, Staibano S, Montella M, Russo D, Alfano R, Morabito A, Botti G, Franco R: Are tumor-infiltrating lymphocytes protagonists or background actors in patient selection for cancer immunotherapy? *Expert Opin Biol Ther* 2017, 17(6):735-746. PMID: 28318336. DOI: 10.1080/14712598.2017.1309387.

88. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM: Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet* 2007, 370(9581):59-67. PMID: 17617273. DOI: 10.1016/s0140-6736(07)61050-2.
89. Mayor PC, Eng KH, Singel KL, Abrams SI, Odunsi K, Moysich KB, Fuleihan R, Garabedian E, Lugar P, Ochs HD, Bonilla FA, Buckley RH, Sullivan KE, Ballas ZK, Cunningham-Rundles C, Segal BH: Cancer in primary immunodeficiency diseases: Cancer incidence in the United States Immune Deficiency Network Registry. *J Allergy Clin Immunol* 2018, 141(3):1028-1035. PMID: 28606585. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.05.024.
90. Khong HT, Restifo NP: Natural selection of tumor variants in the generation of "tumor escape" phenotypes. *Nat Immunol* 2002, 3(11):999-1005. PMID: 12407407. DOI: 10.1038/ni1102-999.
91. Zapata L, Pich O, Serrano L, Kondrashov FA, Ossowski S, Schaefer MH: Negative selection in tumor genome evolution acts on essential cellular functions and the immunopeptidome. *Genome Biol* 2018, 19(1):67. PMID: 29855388. DOI: 10.1186/s13059-018-1434-0.
92. Matsushita H, Vesely MD, Koboldt DC, Rickert CG, Uppaluri R, Magrini VJ, Arthur CD, White JM, Chen YS, Shea LK, Hundal J, Wendl MC, Demeter R, Wylie T, Allison JP, Smyth MJ, Old LJ, Mardis ER, Schreiber RD: Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature* 2012, 482(7385):400-404. PMID: 22318521. DOI: 10.1038/nature10755.
93. http://www.nobelprizemedicine.org/wp-content/uploads/2019/01/Adv_info_FINAL_2018_correct_jan19.pdf. Erişim tarihi: 5 Nisan 2019.
94. Chambers CA, Kuhns MS, Egen JG, Allison JP: CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses: mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annu Rev Immunol* 2001, 19:565-594. PMID: 11244047. DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.565.
95. Leach DR, Krummel MF, Allison JP: Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 1996, 271(5256):1734-1736. PMID: 8596936.
96. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T: Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *Embo j* 1992, 11(11):3887-3895. PMID: 1396582.
97. Kythreotou A, Siddique A, Mauri FA, Bower M, Pinato DJ: PD-L1. *J Clin Pathol* 2018, 71(3):189-194. PMID: 29097600. DOI: 10.1136/jclinpath-2017-204853.
98. <https://www.nobelprize.org/uploads/2018/06/advanced-chemistryprize2015.pdf>. Erişim tarihi: 5 Nisan 2019.
99. Friedberg EC, Lindahl T: Inroads into base excision repair II. The discovery of DNA glycosylases. "An N-glycosidase from *Escherichia coli* that releases free uracil from DNA containing deaminated cytosine residues," *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1974. *DNA Repair (Amst)* 2004, 3(11):1532-1536; discussion 1531-1532. PMID: 15380109. DOI: 10.1016/j.dnarep.2004.05.014.
100. Lindahl T: New class of enzymes acting on damaged DNA. *Nature* 1976, 259(5538):64-66. PMID: 765833.
101. Lahue RS, Au KG, Modrich P: DNA mismatch correction in a defined system. *Science* 1989, 245(4914):160-164. PMID: 2665076.
102. Sancar A, Clarke ND, Griswold J, Kennedy WJ, Rupp WD: Identification of the *uvrB* gene product. *J Mol Biol* 1981, 148(1):63-76. PMID: 6273578.
103. Sancar A, Kacinski BM, Mott DL, Rupp WD: Identification of the *uvrC* gene product. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981, 78(9):5450-5454. PMID: 7029536.
104. Sancar A, Wharton RP, Seltzer S, Kacinski BM, Clarke ND, Rupp WD: Identification of the *uvrA* gene product. *J Mol Biol* 1981, 148(1):45-62. PMID: 6273577.
105. Sancar A, Rupp WD: A novel repair enzyme: UVRABC excision nuclease of *Escherichia coli* cuts a DNA strand on both sides of the damaged region. *Cell* 1983, 33(1):249-260. PMID: 6380755.
106. Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD: Genomic instability—an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010, 11(3):220-228. PMID: 20177397. DOI: 10.1038/nrm2858.
107. Jackson SP, Bartek J: The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* 2009, 461(7267):1071-1078. PMID: 19847258. DOI: 10.1038/nature08467.
108. Artandi SE, DePinho RA: Mice without telomerase: what can they teach us about human cancer? *Nat Med* 2000, 6(8):852-855. PMID: 10932211. DOI: 10.1038/78595.
109. Lynch HT, de la Chapelle A: Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. *J Med Genet* 1999, 36(11):801-818. PMID: 10544223.
110. Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW, Larsen AL, Krush AJ: Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med* 1966, 117(2):206-212. PMID: 5901552.
111. Cleaver JE: Defective repair replication of DNA in xeroderma pigmentosum. *Nature* 1968, 218(5142):652-656. PMID: 5655953.
112. Cleaver JE, Lam ET, Revet I: Disorders of nucleotide excision repair: the genetic and molecular basis of heterogeneity. *Nat Rev Genet* 2009, 10(11):756-768. PMID: 19809470. DOI: 10.1038/nrg2663.
113. Heeke AL, Pishvaian MJ, Lynce F, Xiu J, Brody JR, Chen WJ, Baker TM, Marshall JL, Isaacs C: Prevalence of Homologous Recombination-Related Gene Mutations Across Multiple Cancer Types. *JCO Precis Oncol* 2018, 2018. PMID: 30234181. DOI: 10.1200/po.17.00286.
114. Easton DF, Ford D, Bishop DT: Breast and ovarian cancer incidence in BRCA1-mutation carriers. Breast Cancer Linkage Consortium. *Am J Hum Genet* 1995, 56(1):265-271. PMID: 7825587.
115. Mersch J, Jackson MA, Park M, Nebgen D, Peterson SK, Singletary C, Arun BK, Litton JK: Cancers associated with BRCA1 and BRCA2 mutations other than breast and ovarian. *Cancer* 2015, 121(2):269-275. PMID: 25224030. DOI: 10.1002/cncr.29041.
116. Esteller M: Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008, 358(11):1148-1159. PMID: 18337604. DOI: 10.1056/NEJMra072067.

117. Lund AH, van Lohuizen M: Epigenetics and cancer. *Genes Dev* 2004, 18(19):2315-2335. PMID: 15466484. DOI: 10.1101/gad.1232504.
118. You JS, Jones PA: Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin? *Cancer Cell* 2012, 22(1):9-20. PMID: 22789535. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.06.008.
119. Jasperson KW, Tuohy TM, Neklason DW, Burt RW: Hereditary and familial colon cancer. *Gastroenterology* 2010, 138(6):2044-2058. PMID: 20420945. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.054.
120. Wood LD, Parsons DW, Jones S, Lin J, Sjoblom T, Leary RJ, Shen D, Boca SM, Barber T, Ptak J, Silliman N, Szabo S, Dezso Z, Ustyanksky V, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Karchin R, Wilson PA, Kaminker JS, Zhang Z, Croshaw R, Willis J, Dawson D, Shipitsin M, Willson JK, Sukumar S, Polyak K, Park BH, Pethiyagoda CL, Pant PV, Ballinger DG, Sparks AB, Hartigan J, Smith DR, Suh E, Papadopoulos N, Buckhaults P, Markowitz SD, Parmigiani G, Kinzler KW, Velculescu VE, Vogelstein B: The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 2007, 318(5853):1108-1113. PMID: 17932254. DOI: 10.1126/science.1145720.
121. Buecher B, Cacheux W, Rouleau E, Dieumegard B, Mitry E, Lievre A: Role of microsatellite instability in the management of colorectal cancers. *Dig Liver Dis* 2013, 45(6):441-449. PMID: 23195666. DOI: 10.1016/j.dld.2012.10.006.
122. Tapia T, Smalley SV, Kohen P, Munoz A, Solis LM, Corvalan A, Faundez P, Devoto L, Camus M, Alvarez M, Carvallo P: Promoter hypermethylation of BRCA1 correlates with absence of expression in hereditary breast cancer tumors. *Epigenetics* 2008, 3(3):157-163. PMID: 18567944.
123. Saghafinia S, Mina M, Riggi N, Hanahan D, Ciriello G: Pan-Cancer Landscape of Aberrant DNA Methylation across Human Tumors. *Cell Rep* 2018, 25(4):1066-1080.e1068. PMID: 30355485. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.09.082.
124. Hassler MR, Egger G: Epigenomics of cancer - emerging new concepts. *Biochimie* 2012, 94(11):2219-2230. PMID: 22609632. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.05.007.
125. Sanchez Calle A, Kawamura Y, Yamamoto Y, Takeshita F, Ochiya T: Emerging roles of long non-coding RNA in cancer. *Cancer Sci* 2018, 109(7):2093-2100. PMID: 29774630. DOI: 10.1111/cas.13642.